

人原代软骨永生化细胞说明书

细胞产品信息

细胞名称	人原代软骨细胞永生化细胞
细胞别称	/
产品货号	CE0432
产品规格	1×10 ⁶ cells/T25 培养瓶
生长特性	贴壁生长
细胞形态	长梭形细胞，不规则细胞
培养体系	DF12+10% FBS+1% P/S
传代比例	1:2~1:4
消化时间	1-2min
冻存条件	基础培养基：血清：DMSO=6：3：1
培养环境	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃
注意事项	1. 传代换液时请轻柔操作，首次传代建议 1：2。 2. 收集细胞瓶中完全培养基做过渡对比培养。

冻存细胞收货后处理方法：

1. 收到细胞后，首先观察泡沫箱中干冰是否有剩余，冻存管是否完好，是否有解冻情况，若发现干冰完全汽化或冻存管有解冻现象，请及时拍照并与我们联系。如果细胞签收三天内未与我们联系，则默认为收货良好。
2. 复苏第一管如有活性、状态问题及时与我们联系，会有技术人员与您沟通指导后再复苏第二管。**特别说明：未与我方联系，擅自复苏第二管出现问题不予售后。**

常温细胞收货后处理方法：

- 1) 收到细胞后，首先观察培养瓶是否完好，若发现培养瓶有破裂，培养基外溢、浑浊等现象，请及时拍照并与我们联系。
- 2) 用 75%酒精对培养瓶表面进行消毒处理后，将培养瓶在细胞培养箱中静置 1~2 小时，恢复细胞状态。
- 3) 静置完成后，在显微镜下观察培养瓶中细胞生长情况，并对细胞进行不同倍数拍照保存（40×，100×，200×各两张）前三天照片为重要售后依据。如发现细胞异常请及时与我们联系，如果细胞签收三天内未与我们联系，则默认为收货良好。
- 4) 细胞生长汇合度 80%以上则对细胞进行传代，若是半贴细胞和贴壁不牢（悬浮）细胞：T25 瓶置于培养箱放置约 1~2h，显微镜下观察细胞的情况，若细胞密度在 60%以下，客户需收集 T25 瓶中的悬浮细胞离心后用完全培养基重悬后打回到原培养瓶中继续培养。
- 5) 备注：运输用的培养基（灌液培养基）可以用来培养细胞，进行过渡培养。
收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1：2 传代。

细胞培养步骤:

1) 细胞复苏:

将冻存管从液氮罐或-80℃冰箱中迅速取出，立即置于 37℃ 水浴中迅速摇晃解冻，转移至含 5mL 预温完全培养基的 15mL 离心管中，轻柔混匀后低速离心（1000rpm，5min）；弃上清，用新鲜完全培养基重悬细胞，接种于 T25 培养瓶中，补足培养基至 5mL，轻摇混匀后置 37℃、5% CO₂ 培养箱静置培养。次日观察贴壁及生长状态，及时换液。

2) 细胞传代:

1. 待细胞汇合度达 80%时，弃旧培养基，用不含钙、镁离子的 PBS 轻柔润洗 2 次。
2. 加入 1~2mL 消化液（0.25%Trypsin-0.53mM EDTA）于培养瓶中，常温消化 0.5-1min，然后在显微镜下观察细胞消化情况，若细胞大部分变圆并脱落，迅速拿回操作台，轻敲几下培养瓶后，加 5ml 以上含 10%血清的完全培养基终止消化。
3. 轻轻吹打细胞，完全脱落后吸出至离心管中，1000rpm 离心 5-8min。
4. 弃去上清液，补加 1-2mL 完全培养基后吹匀。按 5-6mL/瓶补加完全培养基，将细胞悬液按 1:2 到 1:3 的比例分到新的含 5-6mL 完全培养基的培养皿中或者培养瓶中。

3) 细胞冻存:

细胞收集参照传代步骤 1-2；按冻存数量加入无血清冻存液后直接放-80℃冰箱过夜，后续可转入液氮罐中长期保存。

注意事项:

所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。

建议在复苏冻存细胞时始终使用防护手套、衣服和戴上防护面罩。注意：冻存管浸没在液氮中会泄漏，并会慢慢充满液氮。解冻时，液氮转化成气相可能导致容器爆炸或用危险力吹掉其盖子，从而产生飞扬的碎屑造成人员伤害