

细胞系使用说明书

细胞名称	HC-a 人关节软骨细胞（通过免疫荧光鉴定）
货号	CQ80233
种属	人
细胞来源	ATCC/中科院/协和医院等地引进
生长特性	贴壁
培养条件	培养基：Chondrocyte Medium(CQ, Cat. #4651) 温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳 培养瓶包被：10mL 无菌水稀释 15μ L 多聚 L-赖氨酸（10mg/mL）加入到 T75 瓶中，37℃ 孵育过夜，使用前用无菌水洗涤 2 次
传代	<ol style="list-style-type: none"> 1. 用 75%酒精喷洒整个培养瓶消毒，将其平躺置于培养箱中进行 1-3 小时的缓冲，然后置于无菌操作台，打开瓶口，将其中的培养液去掉，再往其中加入 5-6mL 新鲜培养基并置于细胞培养箱中培养，一般 3 天换一次液直至细胞长至 70%，之后每隔一天换一次直至细胞长至 90%； 2. 待细胞长满瓶底面积 90%，需要对其进行传代，按照 5000 个/cm²的密度传代； 3 传代步骤：以长满细胞的 T75 培养瓶为例，将 DPBS 与 0.25%胰酶-0.53 mM EDTA 消化液置于室温预热，同时准备一个含有 5mL FBS 的 50mL 离心管。弃去培养瓶中的培养基，往培养瓶中加入 8 ml DPBS，轻晃洗涤后弃去。往瓶中加入 8ml DPBS 及 2 ml 预热好的胰酶，摇匀，置于室温孵育消化（第一次消化需时常取出置于显微镜下观察，以显微镜下细胞触角回收变圆、轻拍瓶壁见细胞脱落为最佳消化时间，记录最佳消化时间，以便于下次消化），将消化液移至含有 FBS 离心管中，而原培养瓶放入 37℃培养箱继续孵育 1 到 2 分钟。孵育结束后，轻拍培养瓶侧面使细胞脱落，往培养瓶中加入 5mL 胰酶中和液，将分离下的细胞转移至离心管，再加一次 5mL 胰酶中和液冲洗培养瓶，再次转移至离心管中。1000 rpm 离心 5min。弃去上清并使用培养基重悬，计数后按照 5000 个/cm²的密度传代至多聚 L-赖氨酸包被的培养瓶/皿中。



<p>保存</p>	<p>冻存条件：80%完全培养基+10%FBS+10%DMSO (备注：建议使用本公司的冷冻液（H-W-100），用 4 度保存的冷冻液直接重悬细胞，不能预热后使用。) 保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 培养瓶有破裂，培养液有漏液：细胞极大可能会污染，所以我们会及时安排帮老师解决。 2. 收到细胞后尽快更换为新鲜的完全培养基。 3. 细胞漂浮：培养瓶不开封，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度 90%，进行消化传代；如细胞还是不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，中间注意观察，我们的技术人员会一直跟踪指导，直到问题解决。

