

大鼠软骨细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CPR068
组织来源	大鼠耳软骨组织
细胞形态	梭形、多角形细胞样, 贴壁生长。
规格	5×10 ⁵ 细胞数量, T25 细胞培养瓶。
培养基	含 FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin 等。
培养条件	气相: 空气, 95%; CO ₂ , 5%。
消化液	0.25%胰蛋白酶。
传代特性	可传 5 代左右, 3 代以内最佳。
传代比例	1:2
换液频率	每 3-4 天换液一次。

二、细胞描述

大鼠耳软骨细胞分离自耳软骨组织; 软骨组织由软骨细胞、基质及纤维构成。软骨组织再生能力强, 这些增生的幼稚细胞形似纤维母细胞, 以后逐渐变为软骨母细胞, 并形成软骨基质, 细胞被埋在软骨陷窝内而变为静止的软骨细胞。根据软骨组织内所含纤维成分的不同, 可将软骨分为透明软骨、弹性软骨和纤维软骨三种, 其中以透明软骨的分布较广, 结构也较典型。软骨细胞 (chondrocyte) 位于软骨陷窝内。幼稚的软骨细胞位于软骨组织的表层, 单个分布, 体积较小, 呈椭圆形, 长轴与软骨表面平行, 越向深层的软骨细胞体积之间增大呈圆形, 细胞核圆形或卵圆形, 染色浅, 细胞质弱嗜碱性, 常见数量不一的脂滴。成熟的软骨细胞多 2-8 个成群分布于软骨陷窝内, 这些软骨细胞由同一个母细胞分裂增殖而成, 称为同源细胞群。电镜下, 软骨细胞有突起和皱褶, 细胞质内有大量的粗面内质网和发达的高尔基复合体及少量的线粒体。在组织切片中, 软骨细胞收缩为不规则形, 在软骨囊和细胞之间出现较大的腔隙。体外培养的软骨细胞对于研究其生理功能、药物作用以及各种致病因素作用下的病理生理改变具有重要意义。

三、提取方法简介

大鼠耳软骨细胞采用胶原酶-中性蛋白酶联合消化法制备而来, 细胞总量约为 5 × 10⁵ cells/瓶。

四、质量检测

大鼠耳软骨细胞经 II 型胶原蛋白免疫荧光鉴定, 纯度可达 90%以上, 且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

五、使用方法

大鼠耳软骨细胞是一种贴壁细胞, 细胞形态梭形、多角形细胞样, 细胞可传 5 代, 3 代以内最佳; 建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

收到细胞后, 请按照以下方法进行操作。

1、取出 T25 细胞培养瓶, 用 75%酒精消毒瓶身, 拆下封口膜, 放入 37°C、5% CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中静置 3-4h, 以稳定细胞状态。

2、贴壁细胞消化

1) 吸出 T25 细胞培养瓶中的培养基, 用 PBS 清洗细胞一次;

2) 添加 0.25%胰蛋白酶消化液 1mL 至 T25 培养瓶中, 轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后, 吸出多余胰蛋白酶消化液, 37°C 温浴 1-3min;倒置显微镜下观察, 待细胞回缩变圆后, 再加入 5mL 完全培养基终止消化;

3) 用吸管轻轻吹打混匀, 按传代比例接种 T25 培养瓶传代, 然后补充新鲜的完全培养基至 5mL, 置于 37°C、5%CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养;

4) 待细胞完全贴壁后, 培养观察, 用于实验; 之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。

3、细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性, 贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿(如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等)时, 需要对实验器皿进行包被, 以增强细胞贴壁性, 避免细胞因没贴好影响实验;包被条件常选用鼠尾胶原 I(2-5μg/cm²), 多聚赖氨酸 PLL(0.1mg/ml), 明胶(0.1%), 依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

六、注意事项

1、完全培养基 4°C 调价下可稳定储存 3 个月。

2、消化过程中, 胰酶消化时间不宜过长, 否则会影响细胞贴壁以及生长状态。

3、建议受到细胞后, 前 3 天内每个倍数各拍几张细胞照片, 记录细胞状态, 以便必要时与技术人员沟通。

4、由于运输的原因, 个别敏感细胞会出现不稳定的情况, 请及时与我们联系, 详细告知细胞的具体情况, 以便我们技术人员跟进。