

人原代髓核细胞永生化细胞

细胞基本信息

产品货号	AW-CNH483
产品规格	>5×10 ⁵ cells
包装规格	T25 培养瓶/1ml 冻存管
细胞形态	长梭形细胞，不规则细胞，贴壁生长
来源	人，椎骨组织
培养条件	<p>原代软骨细胞培养体系： 基础培养基 500ml+软骨细胞培养添加剂5ml+胎牛血清50ml+青链霉素5ml</p> <p>空气，95%；二氧化碳，5% 37℃</p>
细胞描述	<p>髓核，是乳白色半透明胶状体，富于弹性，为椎间盘结构的一部分，位于两软骨板与纤维环之间。由纵横交错的纤维网状结构即软骨细胞和蛋白多糖黏液样基质构成的弹性胶冻物质。</p> <p>发育成熟的髓核是一个由软骨样细胞分散在细胞间质内，周围围绕着一个比较致密的胶原纤维网的含水球，位于椎间盘偏后位置，占椎间盘横断面积的50%~60%；由于它的含水量很高，并和软骨终板紧密接触，是椎间盘接受经软骨终板主要营养途径渗透交换营养的主要部分。</p> <p>该细胞通过慢病毒转染的方式携带SV40基因。</p>
特殊说明	

仅供科研使用，不可用于临床诊断和治疗。

售后服务告知书

1、收到细胞

1) 收到细胞后，活细胞首先观察培养瓶是否完好，培养液是否漏液，培养基是否浑浊；冻存细胞是否干冰已挥发完，冻存管盖是否脱落，破碎，若有这类情况，请务必拍照记录，并于收货 24h 内与我们联系。

2) 细胞处理：

复苏的细胞：如果是 T-25 培养瓶活细胞，收到后请用 75%的酒精对培养瓶表面进行消毒处理，然后转入培养箱中静置 2~3h 后再进行后续处理。

备注：运输用的培养基不宜再次用来培养细胞，请按照说明书新配置完全培养基来培养细胞。

冻存细胞：如果是干冰运输的冻存细胞，收到后请立即转入液氮存储或者短暂（24h）放置-80 度冰箱保存，或者直接进行细胞复苏。

2、细胞出现问题，可以重发的情况有哪些？

- 1) 细胞运输过程中的各种问题，比如细胞丢失，培养基漏液，培养瓶破碎等，重发；
- 2) 细胞污染问题，请在收到细胞 **48h 内**，联系我们，并提供真实的图片及结果，核实后重发；
- 3) 细胞活力问题，活细胞培养 **24h**，干冰冻存发货的细胞复苏后 24h，绝大多数细胞未存活，重发；
- 4) **1 周内**出现问题，并提供收到细胞前 3 天细胞拍照记录，期间与销售人员进行沟通反馈情况的，由技术

员判断为我方责任的，重发；技术人员判断为双方共同承担责任的，由双方进行协商处理或者按照合同价的 50%收费重发；

5) 1 周以后，细胞出现问题或者污染，可以申请合同价 50%再发一瓶。

3、细胞出现问题，不予重发的情况有哪些？

- 1) 客户操作不当导致细胞污染，不重发；1 周内可以申请合同价 50%再发一瓶；
- 2) 客户未按照推荐培养基培养，导致细胞状态不好，不重发；
- 3) 细胞状态不好，收到细胞 3 天内，未告知，不重发；
- 4) 视具体情况而定。

发表[中文论文]请标注：16HBE (AW-CNH072) 由艾碧维生物科技有限公司提供；
发表[英文论文]请标注：16HBE (AW-CNH072) were provided by *Abiowell Biotechnology Co., Ltd.*

细胞复苏、传代及冻存流程参考

1、细胞复苏

- 1) 配制完全培养基：基础培养基+胎牛血清+双抗（特殊培养基特殊配置）；
- 2) 细胞复苏：取 5ml 完全培养基于 15ml 离心管中，37°C 水浴锅预热，从液氮管（或者 -80 度冰箱）中快速取出冻存的细胞，放入 37°C 水浴锅中，摇晃使快速化冻（1min 左右），然后将化冻的细胞和预热的培养基，移入超净工作台中，化冻的细胞加入到含预热培养基的 15ml 离心管中，1000rpm 离心 5min；
- 3) 吸弃上清，得到细胞沉淀，用 2ml 完全培养基轻轻重悬细胞，加入到 T25 培养瓶中，做好标记，放入 37°C，5%CO₂ 饱和适度培养箱中培养（培养皿复苏效果更好）；
- 4) 24h 后，观察细胞贴壁情况（未贴壁的即为死细胞--针对贴壁细胞），吸弃旧培养基，加入新鲜的预热（室温或 37°C）的完全培养基，继续培养。

2、细胞传代

- 1) 待细胞生长到 80% -90% 汇合度时，吸弃旧的培养基，加入 1ml 无菌 PBS 润洗一次，以去除残余的培养基及血清（血清含有胰酶的抑制因子），然后加入 1ml 0.25% 胰酶，37°C 培养箱中消化（1~2min 左右，不同细胞消化时间不同），取出细胞，镜下观察细胞至细胞皱缩变圆；
- 2) 加入 1ml 完全培养基（含 FBS）终止消化，轻轻拍打，使细胞脱落下来成单个细胞悬液，收集细胞于 15ml 无菌离心管中，1000rpm，离心 5min；
- 3) 收集细胞沉淀，完全培养基重悬，一分为二（可根据细胞生长速度调整比例），分别加入到 2 个新的培养瓶中，做好标记，放入培养箱中培养。

3、细胞冻存

- 1) 按照细胞传代方法，在超净工作台内消化收集细胞沉淀，取少量细胞用于计数；
- 2) 用预冷的 1ml 冻存液（90% 完全培养基+10% DMSO）或者无血清细胞冻存液重悬细胞，加入到 1.2ml 冻存管中，密度为 1*10⁶ 个/ml。
- 3) 放入程序冻存盒，-80°C 过夜后，转入液氮长期保存。