



## Product Manual

# Rabbit Chondrocyte

Cat. No. CHC04C

[www.cosmobioco.jp](http://www.cosmobioco.jp)

November 4, 2025

For research use only. Not for clinical diagnosis.

## I. Product Overview

With the aging of society in Japan, the number of individuals experiencing difficulties in daily life due to joint disorders continues to increase, now accounting for approximately 1% of the population. Most of these joint diseases, such as osteoarthritis or chronic rheumatoid arthritis, are caused by damage or necrosis of cartilage tissue.

This product consists of primary cultured rabbit chondrocytes (frozen cells) derived from joint cartilage tissue without loss of function. It is suitable for studies on chondrocyte function, development of therapeutic drugs for joint diseases, and cartilage regeneration experiments.

## II. Precautions Before Use

**Please read this manual carefully before use.**

**All procedures must be performed under aseptic conditions.**

**The biosafety level for this product is Level 1.**

**Use only the designated medium (sold separately) for culturing this product.**

## III. Product Warranty

**Cell growth is guaranteed only when the cells are properly stored in liquid nitrogen and cultured strictly according to this manual using the designated medium and reagents. The warranty is valid for six months from the date of receipt.**

**Note: Any modification of the medium or procedure, or reuse of refrozen cells, will void the warranty.**

## IV. Product Components

| Component          | Size                             | Quantity | Storage                        | Expiration date |
|--------------------|----------------------------------|----------|--------------------------------|-----------------|
| Rabbit Chondrocyte | 2.0 × 10 <sup>6</sup> cells/vial | 1 vial   | Store in liquid nitrogen vapor | 6 months        |

If not used immediately upon receipt, store the frozen cells in liquid nitrogen.

## V. Cell Origin

Derived from rabbit articular cartilage tissue (Japanese white rabbit, female).



## VI. Designated Media (Sold Separately)

| Product Name                       | Catalog No. | Size   | Storage                               |
|------------------------------------|-------------|--------|---------------------------------------|
| Chondrocyte Growth Medium          | CHCG        | 500 mL | Store at -20°C<br>(4°C after thawing) |
| Chondrocyte Differentiation Medium | CHCM        | 500 mL | Store at -20°C<br>(4°C after thawing) |

Main Components: RPMI1640, serum, antibiotics, others.

## VII. Handling Procedures

Note: This product can be subcultured only once.

### Cell Thawing and Seeding

The following protocol assumes use of a 24-well collagen I-coated plate.

Required Materials:

- Chondrocyte Growth Medium (CHCG)
- Chondrocyte Differentiation Medium (CHCM)
- 24-well collagen I-coated plate
- Sterile pipettes, centrifuge tubes, and other culture equipment

1. Thaw the growth medium at 4°C, then warm the required amount to 37°C.
2. Dispense 9 mL of prewarmed growth medium into a 15 mL centrifuge tube.
3. Quickly thaw one vial of frozen cells in a 37°C water bath.
4. Transfer the thawed cell suspension into the prepared centrifuge tube, and centrifuge at 600 × g for 5 minutes at room temperature.
5. Remove the supernatant, add 12.5 mL of prewarmed growth medium, and resuspend the cells to a final concentration of  $1.6 \times 10^5$  cells/mL.
6. Seed 0.5 mL of the suspension per well in a 24-well plate and incubate at 37°C with 5% CO<sub>2</sub>.
7. Change the culture medium two days after seeding, and subsequently replace the medium every 1–2 days until the cells reach confluence.
8. After confluence, switch to differentiation medium and replace it every 2-4 days.

**Caution:** Failure to prewarm the medium to 37°C may significantly reduce cell viability.



## **Cell Subculture**

Chondrocytes should be subcultured only once to avoid dedifferentiation.

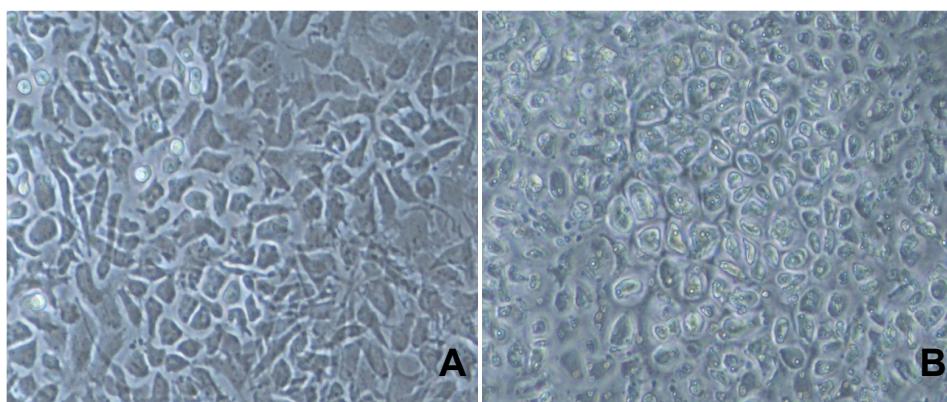
### **Required Materials:**

- Sterile balanced salt solution (HBSS(–) or PBS(–))
- Trypsin–EDTA solution (0.05% trypsin, 0.53 mM EDTA)
- Collagen I-coated culture vessels
- Sterile pipettes and centrifuge tubes
- Chondrocyte Growth Medium (CHCG)
- Chondrocyte Differentiation Medium (CHCM)

### **Procedure:**

1. Prepare chondrocytes cultured to approximately 70% confluence in growth medium.
2. Remove the culture medium and wash twice with sterile balanced salt solution.
3. Add trypsin–EDTA solution to cover the surface, then immediately aspirate it.
4. Incubate at 37°C to allow enzymatic detachment.
5. Add growth medium to stop enzymatic activity, collect cells, and centrifuge at 600×g for 10 minutes at 4°C.
6. Remove the supernatant, resuspend the cells in growth medium, and count using a hemocytometer.
7. Adjust the cell density as needed and reseed for experimental use.

## **VIII. Technical Information**



**Figure 1. Cell Morphology**

**A: Day 2 of culture in differentiation medium**

**B: Day 20 of culture in differentiation medium**



製品添付用データシート

凍結細胞製品

# ウサギ軟骨細胞

Cat. No. CHC04C

[www.cosmobio.co.jp](http://www.cosmobio.co.jp)

2025年11月4日

本製品は研究目的にのみご使用ください。

## I. 製品概要

現在、わが国では高齢化社会の到来に伴い関節障害により日常生活に支障をきたす人の数は、年々増加しており人口の約1%に達しております。これら関節疾患の大部分は軟骨組織が損傷や壊死nし、いよって起こる変形関節症もしくは慢性関節リウマチによるものがほとんどです。

本製品はウサギ関節軟骨組織から機能を損なうことなく初代培養した軟骨細胞（凍結細胞）です。軟骨細胞の機能解明、関節疾患治療薬の開発、軟骨再生実験などにご利用ください。

## II. 使用前注意事項

本マニュアルを使用前に必ずご確認ください。

本製品はすべて【無菌操作】で実施して下さい。バイオセーフティーレベルは【レベル1】です。

本製品の培養には別売の専用メディアムをご使用下さい。

## III. 製品の保証について

細胞を液体窒素にて正しく保存し、専用メディアム及び試薬を用いてマニュアル通りに培養された場合のみ、培養開始後の増殖不良に関して保証致します。

当社、製品サポート（メール：[bio-products@cosmobio.co.jp](mailto:bio-products@cosmobio.co.jp)）までご連絡下さい。

保証期限は【製品お受け取りから6ヶ月以内】です。

メディアムや使用方法に変更を加えられた場合や、再凍結した細胞を使用された場合は、保証の対象になりませんのでご注意ください。

## IV. 製品構成

| 構成                | 容量                             | 本数 | 保存方法   | 有効期限 |
|-------------------|--------------------------------|----|--------|------|
| ウサギ軟骨細胞<br>(凍結細胞) | 2.0×10 <sup>6</sup> cells/vial | 1本 | 液体窒素保存 | 6ヶ月  |

※受け取り後、直ちにご使用にならない場合は凍結細胞を液体窒素にて保存してください

## V. 細胞の由来

ウサギ関節軟骨組織由来（日本白色種・メス）



## VII. 専用メディア (別売)

| 品名              | 品番   | 容量    | 保存方法                   | 有効期限                                       |
|-----------------|------|-------|------------------------|--|
| 軟骨細胞<br>増殖用メディア | CHCG | 500mL | −20°C保存<br>(解凍後は4°C保存) | ボトル記載(-20°C)<br>解凍後は4°C保管し、<br>お早めにご使用ください |
| 軟骨細胞<br>分化用メディア | CHCM | 500mL | −20°C保存<br>(解凍後は4°C保存) | ボトル記載(-20°C)<br>解凍後は4°C保管し、<br>お早めにご使用ください |

培地の主成分 : RPMI1640、血清、抗生素、その他

## VII. 操作方法

※本製品は【1回のみ継代可能】です。

### 細胞解凍・播種

※下記は、24well プレートで培養する場合のプロトコールです。

#### 【準備するもの】

- ・コラーゲンコート済み 24well 培養プレート
- ・軟骨細胞増殖用メディア (品番 : CHCG)
- ・軟骨細胞分化用メディア (品番 : CHCM)
- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具

1. 予め増殖用メディアを4°Cで解凍し、必要量を37°Cで温めてください。
2. 15mL 遠心チューブ1本に37°Cに保温した増殖用メディア9mLを分注してください(注1)。
3. 凍結細胞1本を37°C温水で速やかに解凍してください。凍結細胞を含むクライオチューブを液体窒素から取り出し、すぐに37°Cのウォーターバスで温めます。クライオチューブ内に小さな氷塊が残るまで、37°Cのウォーターバス内でクライオチューブを静かに旋回させ、細胞を急速に解凍します(90~120秒間)。
4. 解凍した細胞液は、予め用意した15mL遠心チューブ(増殖用メディア9mLを含む)に移し、室温、600gで5分間遠心してください。
5. 上清を除去し、温めた増殖用メディアを12.5mL加え、細胞浮遊液( $1.6 \times 10^5 \text{ cells/mL}$ )を調製してください。
6. 24well プレート(コラーゲンコート済)に1wellあたり細胞浮遊液0.5mLずつ播種後、5%CO<sub>2</sub>存在下の37°Cインキュベーターで培養し、2日間静置してください。
7. 播種から翌々日、37°Cに保温した増殖用メディアで1wellあたり0.5mLずつ培地交換し、コンフルエントになるまで1~2日おきに増殖用メディアで培地交換してください。

※播種してから3~5日後にコンフルエントになります。

8. コンフルエント以降は分化用メディアで培養し、2~4日おきに培地交換してください。

注1 : 37°Cに保温していないメディアを使用すると、細胞の生存率が大きく低下する可能性がありますので、必ず37°Cに温めて使用してください。



## 細胞継代

軟骨細胞は継代により脱分化しやすくなるため、本細胞の継代は1回までご使用ください。

### 【準備するもの】

- ・滅菌済み平衡塩溶液(Hank's BSS(-)もしくは PBS(-))
- ・トリプシン-EDTA 溶液 (0.05% トリプシン, 0.53mM EDTA)
- ・実験に使用する培養用容器 (コラーゲン I コート済)
- ・滅菌済ピペット、遠心チューブなどの培養器具
- ・軟骨細胞増殖用メディアム (品番 : CHCG)
- ・軟骨細胞分化用メディアム (品番 : CHCM)

1. 増殖用メディアムで培養した軟骨細胞 (70% コンフルエント状態) を用意してください。

※コンフルエントもしくは分化用メディアムで培養した軟骨細胞は、細胞外基質の影響でトリプシンによる細胞回収率が極端に低くなりますので注意ください。

2. 培養容器のメディアムを吸引除去後に、滅菌済み平衡塩溶液 (HBSS(-)もしくは PBS(-)) を加えて洗浄してください (この操作を2回繰り返してください)。
3. 培養容器内の平衡塩溶液を除去してください。
4. トリプシン-EDTA 溶液を添加して培養表面を行き渡らせた後、直ちに容器内のトリプシン溶液を吸引除去してください。
5. 容器を37°Cインキュベーターに静置して酵素処理を行ってください。鏡検で細胞が丸くなるのを確認し、軽く手のひらで培養容器をたたき、細胞が培養面から流動する様子が観察されるまで酵素処理を行ってください。
6. 培養容器に増殖用メディアムを加えて酵素処理を停止し、分散した細胞を遠心管に回収し、4°C、600xgで10分間遠心してください。
7. 上清を除去し、増殖用メディアム加えて細胞浮遊液を調製した後、血球計算盤で細胞数をカウントし、適切な細胞密度になるように調整してください。
8. 培養容器に播種して任意の実験系にご使用ください。

## VIII. 技術情報

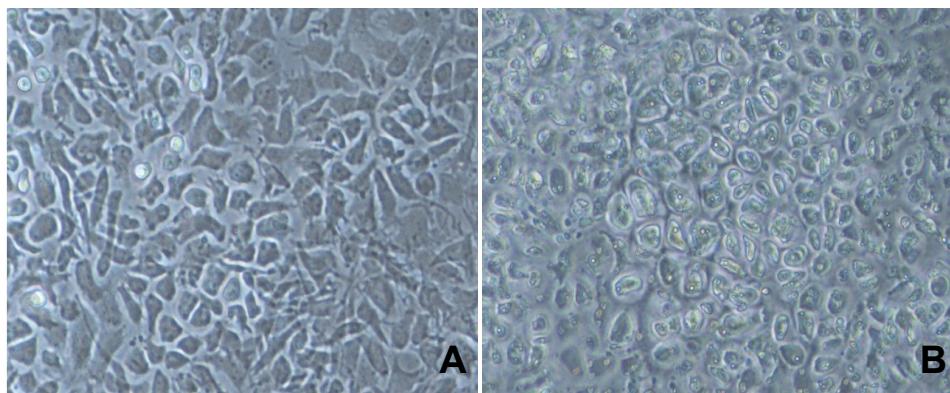


図1. 軟骨細胞写真

A : 分化用メディアムで培養 2 日目、B : 分化用メディアムで培養 20 日目