

# MDBK(BVDV-free)细胞；牛肾细胞

## 细胞基本信息

|       |  |
|-------|--|
| 细胞名称  | <u>MDBK(BVDV-free)细胞；牛肾细胞</u>  |
| 细胞品牌  | 金少源生物  |
| 细胞规格  | 1×10 <sup>6</sup> cells/T25 培养瓶  |
| 细胞英文  | MDBK(BVDV-free)细胞  |
| 种属来源  | 牛  |
| 组织来源  | 肾  |
| 细胞形态  | 上皮细胞样  |
| 生长特性  | 贴壁生长   |
| 培养基   | MEM 培养基, 90% ; FBS, 10%  |
| 生长条件  | 气相: 空气, 95% ; 二氧化碳, 5% ; 温度: 37°C  |
| 传代方法  | 1: 2 至 1: 6, 每周 2 次  |
| 冻存条件  | 90% 完全培养基+10% DMSO, 液氮储存   |
| 支原体检测 | 阴性   |
| 细胞简介  | 该细胞由中国药品生物制品检定所细胞室王佑春主任赠送。MDBK 细胞对包括牛腺病毒、牛细小病毒、牛腹泻病毒在内的多种病毒敏感，可用于这些病毒的扩增、检测研究。 |
| 发货方式  | 快递运输(特殊情况的另处理)   |
| 供应范围  | 仅限于科研实验使用，不得用于其他用途   |

## 接受后处理

|      |   |
|------|---|
| 处理 1 | 收到细胞后, 请检查是否漏液 , 如果漏液, 请拍照片发给我们               |
| 处理 2 | 请先在显微镜下确认细胞生长状态, 去掉封口膜并将 T25 瓶置于 37°C培养约 2-3h |
| 处理 3 | 弃去 T25 瓶中的培养基, 添加 6ml 本公司附带的完全培养基             |
| 处理 4 | 如果细胞密度达 80%-90%请及时进行细胞传代, 传代培养用 6ml 本公司的完全培养基 |
| 处理 5 | 接到细胞次日, 请检查细胞是否污染, 若发现污染或疑似污染, 请及时与我们取得联系     |

## 细胞操作

|      |  |
|------|--|
| 复苏细胞 | 将含有 1mL 细胞悬液的冻存管在 37°C水浴中迅速摇晃解冻, 加入 4mL 培养基混合均匀。<br><br>在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入培养瓶中培养过夜(或将细胞悬液加入 10cm 皿中, 加入约 8ml 培养基, 培养过夜)。<br><br>第二天换液并检查细胞密度。  |
|      | <b>如果细胞密度达 80%-90%, 即可进行传代培养:</b><br><br><b>1.</b> 弃去培养上清, 用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。<br><br><b>2.</b> 加 1ml 消化液(0.25%Trypsin-0.53mM EDTA)于培养瓶中, 置于 37°C培养箱中消化 1-2 分钟, 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少量培养基终止消化。 |
| 细胞传代 | <b>3.</b> 按 6-8ml/瓶补加培养基, 轻轻打匀后吸出, 在 1000RPM 条件下离心 4 分钟, 弃去上清液, 补加 1-2mL 培养液后吹匀。<br><br><b>4.</b> 将细胞悬液按 1: 2 比例分到新的含 8ml 培养基的新皿中或者瓶中。   |
| 细胞冻存 | <b>待细胞生长状态良好时, 可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为类:</b>   |

|      |   |
|------|---|
|      | <p><b>1.</b> 弃去培养基后，PBS 清洗一遍后加入 1ml 胰酶，细胞变圆脱落后，加入 1ml 含血清的培养基终止消化，可使用血球计数板计数。</p> <p><b>2.</b> 4 min 1000rpm 离心去掉上清。加 1ml 血清重悬细胞，根据细胞数量加入血清和 DMSO，轻轻混匀，DMSO 终浓度为 10%，细胞密度不低于 <math>1 \times 10^6/\text{ml}</math>，每支冻存管冻存 1ml 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</p> <p><b>3.</b> 将冻存管置于程序降温盒中，放入 -80 度冰箱，2 个小时以后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p>  |
| 注意事项 | <p><b>1.</b> 收到细胞后首先观察细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，若有上述现象发生请及时和我们联系。</p> <p><b>2.</b> 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如细胞形态、所用培养基、血清比例、所需细胞因子等，确保细胞培养条件一致。若由于培养条件不一致而导致细胞出现问题，责任由客户自行承担。</p> <p><b>3.</b> 用 75% 酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态。因运输问题贴壁细胞会有少量从瓶壁脱落，将细胞置于培养箱内静置培养 4~6 小时，再取出观察。此时多数细胞均会贴壁，若细胞仍不能贴壁请用台盼蓝染色测定细胞活力，如果证实细胞活力正常，请将细胞离心后用新鲜培养基再次贴壁培养；如果染色结果显示细胞无活力，请拍下照片及时和我们联系，信息确认后我们为您再免费寄送一次。</p> <p><b>4.</b> 静置细胞贴壁后，请将细胞瓶内的培养基倒出，留 6~8mL 维持细胞正常培养，待细胞汇合度 80% 左右时正常传代。</p> <p><b>5.</b> 请客户用相同条件的培养基用于细胞培养，培养瓶内多余的培养基可收集备用，细胞传代时可以一定比例和客户自备的培养基混合，使细胞逐渐适应培养条件。</p> |

## 细胞备注

- 1) 建议客户收到细胞后前 3 天各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于本公司技术部沟通交流。
- 2) 如果细胞在运输中出现问题，可能个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪回访直至问题解决。
- 3) 金少源生物客户在细购买细胞过程中各种问题，可以随时拨打免费服务电话 **4008-723-722**，我们随时给予实验中的解答。

## 细胞予重发

1. 细胞运输途中遭遇的各种问题，细胞丢失、瓶身破损、培养液严重漏液等，重发。
2. 收到细胞未开封，如出现污染状况，重发。
3. 收到细胞 3 天内，发现污染问题，经核实后，重发。
4. 常温发货的细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，绝大多数细胞未存活，经核实后，重发。
5. 常温发货的细胞静置 22 小时并且未开封或干冰冻存发货的细胞复苏 2 天后，出现污染，经核实后，重发。
6. 细胞活性问题，请在收到产品 3 天内给我们提出真实的实验结果，用台盼蓝染色法鉴定细胞活力，经核实后，重发。

## 细胞不予重发

1. 客户操作造成细胞污染，不重发。
2. 客户严重操作失误致细胞状态不好，不重发。
3. 非我们推荐细胞培养体系致的细胞状态不好，不重发。
4. 细胞状态不好，未提供真实清晰的培养前 3 天的细胞状态照片，不重发。

5. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不重发。
6. 收到细胞发现问题与客服人员沟通的时间证明大于 3 天的，不重发。

**金少源(上海)生物科技有限公司提供的细胞仅供科研使用**