

细胞介绍

该细胞系源自一只雌性英国可卡犬的肾脏组织，由 S.H. Madinand N.B. Darby 于 1958 年建立。该细胞为角蛋白阳性细胞。

细胞特性

- 1) **来源**：狗肾
- 2) **形态**：上皮细胞样，贴壁生长
- 3) **含量**： $>1 \times 10^6$ 个/mL
- 4) **污染**：支原体、细菌、酵母和真菌检测为阴性
- 5) **规格**：T25 瓶或者 1mL 冻存管包装

细胞接受后的处理：

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。
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。
3. 弃去 T25 瓶中的培养基，添加 6ml 本公司附带的完全培养基。
4. 如果细胞长满（90%以上）请及时进行细胞传代，传代培养用 6ml 本公司附带的完全培养基。
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。

细胞用途：仅供科研使用。

本公司的细胞培养操作规程，供参考

1) 培养基及培养冻存条件准备：

1. 准备 MEM a 培养基(MEM a, GIBCO, 货号 12561-056)，90%;优质胎牛血清，10%。
2. 培养条件：气相：空气，95%;二氧化碳，5%。温度：37°C，培养箱湿度为 70%-80%。
3. 冻存液：90%血清，10%DMSO，现用现配。液氮储存。

2) 细胞处理：

复苏细胞：将含有 1mL 细胞悬液的冻存管迅速放入 37°C 水浴中（水面要低于冻存管盖部）摇晃解冻，移入事先准备好的含有 4mL 培养基的 15ml 离心管中混合均匀。在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，加入 1mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液移入含有 5ml 培养基的培养瓶中培养过夜。第二天换液并检查细胞密度。

细胞传代：如果细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养。

对于贴壁细胞，传代可参考以下方法：

弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。

力口 2ml 消化液 (0.25%Trypsin-0.53mMEDTA) 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入 3ml 此细胞的培养基终止消化。

轻轻吹打后吸出，移入 15ml 离心管中，在 1000RPM 条件下离心 4 分钟，弃去上清液，加入 1ml 培养液后吹匀。

移入到事先准备好的含有 5ml 培养基的 T-25 培养瓶中或含有 14ml 培养基的 T-75 培养瓶中培养。

细胞冻存：待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。贴壁细胞冻存时，先要消化处理并进行细胞计数。消化方法按照细胞传代方法的 1-3 步骤进行，最后的重悬液使用血清。悬浮细胞直接计数后离心，用血清重悬浮，加 DMSO 至最终浓度为 10%。加入 DMSO 后迅速混匀，按每 1ml 的数量分配到冻存管中。本公司按每个冻存管细胞数目大于 1×10^6 个细胞冻存。

注意事项：

收到细胞后，若发现干冰已挥发干净、冻存管瓶盖脱落、破损及细胞有污染，请立即与我们联系。

所有动物细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护，所有废液及接触过此细胞的器皿需要灭菌后方能丢弃。