

人外周血中性粒细胞

| 一、基本信息 | |
|--------|---|
| 细胞名称 | 人外周血中性粒细胞 |
| 细胞品牌 | 江蓝纯生物 |
| 种属来源 | 人 |
| 组织来源 | 外周血 |
| 生长特性 | 悬浮生长 |
| 分离方法 | 通过密度梯度离心法获得 |
| 细胞简介 | <p>中性粒细胞(neutrophil)是在瑞氏(Wright)染色血涂片中,胞质呈无色或极浅的淡红色,有许多弥散分布的细小的(0.2~0.4微米)浅红或浅紫色的特有颗粒。细胞核呈杆状或2~5分叶状,叶与叶间有细丝相连。中性粒细胞具趋化作用、吞噬作用和杀菌作用。中性粒细胞来源于骨髓,具有分叶形或杆状的核,胞浆内含有大量既不嗜碱也不嗜酸的中性细颗粒。这些颗粒多是溶酶体,内含髓过氧化物酶、溶菌酶、碱性磷酸酶和酸性水解酶等丰富的酶类,与细胞的吞噬和消化功能有关。中性粒细胞来源于骨髓的造血干细胞,在骨髓中分化发育后,进入血液或组织。在骨髓、血液和结缔组织的分布数量比是28:1:25,成年人血液中中性粒细胞的数量约占白细胞总数的55%—70%。</p> |
| 细胞鉴定 | CD11b/Integrin alpha M ⁺ 、CD15 ⁺ 、CD45 ⁺ 或CD18 ⁺ 免疫荧光染色为阳性,细胞纯度高于90% |
| 支原体检测 | 人外周血中性粒细胞不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌 |
| 细胞规格 | 5x10 ⁵ cells/T25 或 1mL 冻存管 |

| | |
|------|-------------------------------|
| 培养基 | 人外周血中性粒细胞专用培养基 |
| 培养条件 | 气相：95%空气+5%二氧化碳；温度：37°C |
| 冻存条件 | 无血清冻存液，液氮储存 |
| 细胞代数 | 第 1 代 |
| 细胞货期 | 现货，1 周左右 |
| 发货方式 | 复苏发货（免运输费用）/ 冻存发货（需加干冰运输费用） |
| 供应范围 | 仅限于科研实验使用，绝不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用 |
| 特别说明 | 具体操作步骤以随货产品说明书为主 |

二、细胞培养操作

| | |
|------|--|
| 收货处理 | 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%CO ₂ ，饱和湿度的细胞培养箱中静置 3-4h，以稳定细胞状态 |
| 细胞复苏 | 将含有 1 mL 细胞悬液的冻存管在 37°C 水浴中迅速摇晃解冻，加 4 mL 培养基混合均匀。在 1000 rpm 条件下离心 3 min，弃去上清液，加 1-2 mL 培养基后吹匀。然后将所有细胞悬液加入含适量培养基的培养瓶中培养过夜（或将细胞悬液加入 6 cm 皿中，加入约 4 mL 完全培养基，培养过夜）。第三天换液并检查细胞密度。 |
| 传代密度 | 细胞密度达 80%-90%，即可进行传代培养 |
| 传代比例 | 首次传代建议 1: 2 传代，1:2 传代就是 1 个 T25 瓶传 2 个 T25 瓶或者 2 个 6cm 皿。不是 1 个 T25 瓶传 2 个 10cm 皿 |
| 传代方法 | <p>a、弃去培养上清，用不含钙、镁离子的 PBS 润洗细胞 1-2 次。</p> <p>b、加 1 mL 消化液（0.25%Trypsin-0.02%EDTA）于培养瓶中，使消化液浸润所有细胞，将培养瓶置于 37°C 培养箱中消化 1 -3min（视细胞消化情况而定），然后在显微镜下观察细胞消化情况，若</p> |

| | |
|---------------|---|
| | <p>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 2-3ml 完全培养基终止消化。轻轻打匀后装入无菌离心管中，1000 rpm 离心 5 min，弃去上清液，补加 1-2 mL 培养液后吹匀。</p> <p>c、将细胞悬液按 1:2 比例分到新的含 8 mL 培养基的新皿中或者瓶中，置于培养箱中培养。</p> |
| 细胞冻存 | <p>待细胞生长状态良好时，可进行细胞冻存。下面 T25 瓶为例</p> <p>a、收集细胞及细胞培养液，装入无菌离心管中，1000 rpm 条件下离心 4 min，弃去上清液，用 PBS 清洗一遍，弃尽 PBS，进行细胞计数。</p> <p>b、根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}$，轻轻混匀，每支冻存管冻存 1mL 细胞悬液，注意冻存管做好标识。</p> <p>c、将冻存管放入 -80°C 冰箱，24 h 后转入液氮灌储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p> |
| 三、注意事项 | |
| 重要提醒 | <ol style="list-style-type: none"> 1. 培养基于 4°C 条件下可保存 3-6 个月。 2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。 3. 传代培养过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。 4. 运输用的培养基（灌液培养基）不能再用来培养细胞，请换用按照说明书细胞培养条件新配制的完全培养基来培养细胞。 |
| 到货须知 | <ol style="list-style-type: none"> 1. 收到细胞后，首先观察并拍照记录细胞瓶是否完好，培养液是否有漏液、浑浊等现象，干冰运输的细胞检查干冰是否完全挥发，细胞是否解冻，若有上述现象发生请及时和我们联系。 2. 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照（当天以及第 2,3 天请拍照），记录细胞状态（所拍照片将作为后续服务依据）；建议细胞传代培养后，定期拍照、记录细胞生长状态。 3. 由于运输的原因，部分细胞由于温度变化及剧烈碰撞死亡破碎形成碎片，是正常现象。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。

4.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。

四、售后服务

细胞予重发

1. 细胞运输中遭遇的各种问题，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。