

## 牛脾脏中性粒细胞

一、基本信息	
细胞名称	牛脾脏中性粒细胞
细胞品牌	江蓝纯生物
种属来源	牛
组织来源	脾脏
生长特性	悬浮生长
分离方法	通过密度梯度离心获得
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 <sup>+</sup> 、CD15 <sup>+</sup> 、CD45 <sup>+</sup> 或CD18 <sup>+</sup> 免疫荧光染色为阳性,细胞纯度高于90%
支原体检测	牛脾脏中性粒细胞不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌
细胞规格	5x10 <sup>5</sup> cells/T25 或 1mL 冻存管

培养基	牛脾脏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%酒精擦拭细胞瓶表面，显微镜下观察细胞状态，观察好细胞状态后，75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37°C培养箱放置 2-4h，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><b>c、</b>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><b>a、</b>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>b、</b>根据细胞数量加入无血清细胞冻存液，使细胞密度 <math>5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7 / \text{mL}</math>，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><b>c、</b>将冻存管放入 <math>-80^{\circ}\text{C}</math> 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>
<h3>三、注意事项</h3>	
重要提醒	<ol style="list-style-type: none"> <li>1.培养基于 <math>4^{\circ}\text{C}</math> 条件下可保存 3-6 个月。</li> <li>2.在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。</li> <li>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。</li> <li>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。</li> </ol>
到货须知	<ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>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。</li> <li>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</li> </ol>

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。