



## 猫外周血中性粒细胞

### 细胞信息

细胞名称	猫外周血中性粒细胞
细胞品牌	通蔚生物
种属来源	猫
组织来源	外周血
生长特性	悬浮生长
分离方法	通过密度梯度离心获得
细胞简介	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%。
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	猫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 <sup>5</sup> cells/T25 或 1mL 冻存管
培养基	猴骨髓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



## 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 5x10<sup>6</sup>-1x10<sup>7</sup>/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 后转入液氮罐储存。记录冻存管位置以便下次拿取。</p>

## 注意事项

重要提醒	<ol style="list-style-type: none"><li>培养基于 4°C 条件下可保存 3-6 个月。</li><li>在细胞培养过程中, 请注意保持无菌操作。</li><li>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>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>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>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>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。</li><li>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。</li></ol>



## 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. 常温发货细胞静置 2 小时后，干冰冻存发货细胞复苏 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. 细胞活性问题在收到产品 3 天内提出真实实验结果，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**。

### 特别说明

上海通蔚生物客户在细胞培养过程中，有任何技术问题可以拨打免费服务电话 **021-54845833 或 15800441009**，我们随时给予实验中的免费解答。