

人外周血中性粒细胞说明书

货号 Cat No.	PRI-H-00125
规格 specifications	5 x 10 ⁵ cells/vial
描述 Description	<p>人外周血中性粒细胞分离自外周血；外周血是除骨髓之外的血液，中性粒细胞是在瑞氏(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。中性粒细胞在血液的非特异性免疫中起着十分重要的作用，它处于机体抵御微生物病原体，特别是在化脓性细菌入侵的第一线，具有很强的吞噬活性，可吞噬细菌、衰老的红细胞、抗原-抗体复合物和坏死的细胞等。中性粒细胞内含有大量溶酶体酶，因此能将吞噬入细胞内的细菌和组织碎片彻底分解。当中性粒细胞吞噬数十个细菌后，自身发生解体，所释出的各种溶酶体酶类能溶解周围组织而形成脓液。</p>
分离方法及质量控制 methods and quality control	人外周血中性粒细胞采用胰酶消化制备而来，细胞总量约为5×10 ⁵ cells，细胞经瑞氏染色，细胞纯度可达80%以上，且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。
培养试剂及培养条件 Culture Medium and reagents	<p>细胞专用培养基组分：500ml 基础培养基；胎牛血清；细胞生长因子；青霉素/链霉素溶液 (备注：每种组分单独包装，使用前需要按比例分装，详细操作详见说明书，现用现配，效果更佳。)</p> <p>推荐专用培养基 人外周血中性粒细胞完全培养基 货号： 0.05%消化液货号：CSP048 无血清细胞冻存液：CSP077</p> <p>温度：37℃ 气相：95%空气，5%二氧化碳</p>
培养特性 Culture Properties	贴壁
细胞复苏 Cell Thawing	<p>注意：1.低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入37℃的水浴中解冻，尽快复苏细胞。 2.提前室温预热培养基。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.在无菌区准备好15ml离心管和T-25培养瓶并分别加入5ml完全培养基； 2.将冻存管放入37℃水浴锅中，握住冻存管不停晃动，直到内容物完全融化。然后立即将冻存管从水浴中取出，擦干并喷洒75%乙醇，移至无菌区； 3.小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞悬液，加入到准备好的15ml离心管中，1000rpm离心5min； 4.弃上清后，轻弹离心管底部分散细胞沉淀，加入适量完全培养基重悬细胞后转入准备好的T25培养瓶(建议加液量：5~7ml)； 5.轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布，如有必要(如使用不透气瓶)，松开阀盖，以便气体交换。 6.将培养瓶放入CO₂培养箱中培养。 <p>人外周血中性粒细胞不建议传代；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。</p>

<p>细胞冻存 Cell cryopreservation</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 常规方法收集对数期的贴壁细胞或悬浮细胞于试管中。 2. 根据培养细胞的密度和冻存管的大小确定所需冻存细胞数。 3. 将所需数目的细胞悬浮液置于离心管中，1000rpm，5 分钟离心收集培养细胞沉淀，彻底弃去离心管中的上清液。 4. 加入适量的细胞冻存液于离心管中，使细胞浓度约为 $5 \times 10^5 - 1 \times 10^7$ /ml。轻柔地混匀细胞，制成细胞混合液。 5. 将离心管中的细胞混合液分装于已标记的冻存管中，建议每管 1ml 或 1.5ml。 6. 直接将分装好的细胞冻存管放入-80℃超低温冰箱中，可长期冷冻保存。 7. 如果想液氮中长期保存，需先放入-80℃冰箱至少一天时间，方可移至液氮罐中保存。 8. 以上冻存步骤是按照无血清冻存液（货号：CSP077）推荐。
<p>保存 Storage</p>	<p>保存条件：液氮长期存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅限科研，不可用于临床</p>
<p>安全性 Safety</p>	<p>所有肿瘤和病毒转染的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</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。 2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85%左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法） 3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法） 4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法） <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>
<p>备注 additional information</p>	<p>由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考。 原代细胞体外培养周期非常有限，请尽快及时安排实验。 建议中乔新舟配套的专用细胞培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。</p>