

## 狗外周血白细胞

一、基本信息	
细胞名称	狗外周血白细胞
细胞品牌	江蓝纯生物
种属来源	狗
组织来源	外周血
生长特性	细胞为混合体系，大部分悬浮生长，少量贴壁生长
分离方法	通过密度梯度离心获得
细胞简介	<p>白细胞(英文名:leukocyte, white blood cell, 简称:WBC), 旧称白血球。血液中的一类细胞。白细胞经复合染料染色后, 可根据其形态差异和细胞质内有无特有的颗粒可分粒细胞和无粒细胞。无粒细胞又分为单核细胞与淋巴细胞两种。血液中有三种类型的淋巴细胞: B 细胞、T 细胞和 NK 细胞。粒细胞胞质内含有嗜色颗粒, 分为中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞。在显微镜下可以看到, 血细胞中体积比较大、数量比较少。具有细胞核。白细胞能吞噬异物产生抗体, 在机体损伤治愈、抵御病原的入侵和对疾病的免疫方面有重要作用。</p>
细胞鉴定	血涂片, Giemsa 染色验证
支原体检测	狗外周血白细胞不含有 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	狗外周血白细胞专用培养基

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</p>

	<p>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>
<b>三、注意事项</b>	
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至问题解决。</li> </ol>

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。