

## 人中性粒细胞说明书

### 【产品名称】

中文名称：人中性粒细胞

英文名称：Human Neutrophils

### 【预期用途】

可作为多种领域研究所需的原材料。

### 【贮藏条件与有效期】

置于液氮保存，有效期为 24 个月；

生产日期，有效期至：见标签。

### 【产品简介】

中性粒细胞占外周血白细胞总数的 50%-70%，是人体含量最丰富的免疫细胞。中性粒细胞来源于骨髓，内含过氧化酶、溶菌酶、碱性磷酸酶和酸性水解酶等丰富的酶类，具有趋化作用、吞噬作用和杀菌作用。中性粒细胞是免疫学领域，感染性疾病领域，恶性血液疾病等领域学者经常需要的研究原材料。

### 【操作步骤】

所需试剂：

- 1 IMDM,  $\alpha$ -MEM 或 RPMI-1640
- 2 FBS
- 3 DNase I

操作流程：

- 1 准备好 37° C 水浴，将 RPMI-1640 与 FBS 温浴至 37° C；
- 2 生物安全柜中，配制含 10%FBS 的培养基（IMDM,  $\alpha$ -MEM 或 RPMI-1640 均可），待用；
- 3 从液氮中取出中性粒细胞冻存管，置于-80° C 超低温冰箱中数分钟，使冻存管中的液氮挥发，而后迅速将其置于 37° C 温水中，并快速水平晃动，使其内含物尽快融化，直至冻存管固体内含物余下一小冰屑后取出冻存管；

注意：

- 1) 从液氮中取出冻存管时，往往在冻存管里含有液氮，最好先将冻存管先置于超低温冰箱中，使液氮挥发，再进行水浴化冻的操作；
- 2) 尽可能将冻存管的内含物全部浸没于 37° C 温水中，使内含物均匀融化；
- 3) 请勿使温水没过冻存管盖的螺口，以防污染；

4) 细胞复苏的操作过程要迅速，避免影响细胞复苏后的活性。

4 在将冻存管拿进生物安全柜之前，用 75%酒精对其表面进行消毒；

5 轻轻重悬细胞，并将其移入装有 300 $\mu$ g DNase I 的 50mL 离心管里；

注意：

1) 加入 DNase I 可有效减少中性粒细胞复苏后细胞团块的产生；

2) DNase I 的使用是非必须的，对于 DNA, RNA 等的提取目的可不使用。

6 用 1mL 培养基冲洗冻存管，并将此悬液以 3-5s 每滴的速度滴加到 50mL 离心管中，并且同时轻轻摇晃离心管，使滴加的悬液混匀；

7 吸取 15-20mL 的培养基以 3-5s 每滴的速度滴加到 50mL 离心管中，并且同时轻轻摇晃离心管，使滴加的悬液混匀；

注意：第 5,6,7 步骤可使中性粒细胞中的 DMSO 缓慢均匀的渗透出来，最大程度保证细胞安全，但操作较为缓慢，若有多个样品需要处理时，可以将操作步骤更改为：

5'：轻轻重悬细胞，并将其移入装有 300 $\mu$ g DNase I 的 15mL 离心管里；

6'：用 1mL 培养基冲洗冻存管，并将此悬液合并到到 15mL 离心管里；

7'：吸取 10mL 培养基，直接加入到 15mL 离心管中，反复轻柔吹打或上下颠倒混匀，室温  
孵育 10min；

8 室温下，300g 离心 10min；

9 迅速使用移液枪吸走上清，剩余少许液体，并轻轻吹打液体使 PBMC 悬浮；

注意：

1) 离心结束后，尽快吸走上清；

2) 吹打液体时动作要轻，避免损伤细胞，并且吹打时尽可能避免气泡产生。

10 缓慢加入 15-20mL 新鲜培养基，并同时轻轻摇晃离心管；

11 室温下，300g 离心 10min；

12 迅速使用移液枪吸走上清，剩余少许液体，并轻轻吹打液体使细胞悬浮，此中性粒细胞即可用于下游实验。

### 【产品性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。