

人表皮角质形成细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CPH079
组织来源	皮肤组织
细胞形态	上皮细胞样, 贴壁生长。
规格	5×10 ⁵ 细胞数量, T25 细胞培养瓶。
培养基	含 FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin 等。
培养条件	气相: 空气, 95%; CO ₂ , 5%。
消化液	0.25%胰蛋白酶。
传代特性	可传 3 代左右
传代比例	1:2
换液频率	每 2-3 天换液一次。

二、细胞描述

人表皮角质形成细胞分离自皮肤组织; 表皮位于皮肤的外层, 由胚胎时期外胚层形成, 具有抗摩擦和抗损伤的作用。表皮是皮肤的浅层结构, 由复层扁平上皮构成。从基底层到表面可分为五层, 即基底层、棘层、颗粒层、透明层和角质层。表皮角质形成细胞是一种能合成角质蛋白的上皮细胞, 此类细胞为表皮的主体, 由表皮深层始逐渐增殖、分化, 并在成为角化的角质细胞中, 细胞核与细胞器完全消失, 细胞亦失去生理功能而脱落。未脱落部分对机体尚有保护作用, 故不必在洗擦身体时用力搓擦, 使其过早脱失。表皮角质形成细胞主要分布于表皮基底层, 在上皮程序性死亡后, 细胞产生角化并移向表皮。体外培养的表皮角化细胞容易导致终末分化, 不能充分增殖。角质形成细胞最终产生角质蛋白, 在其向角质细胞演变过程中, 一般可以分为四层, 即基底层、棘层、颗粒层以及角质层。有人把前三层或前二层称为生发层或马尔匹基层。此外, 在某些部位, 特别在掌跖部位, 角质层下方还可见到透明层。

三、提取方法简介

人表皮角质形成层细胞先中性蛋白酶消化、后胰蛋白酶-胶原酶混合消化法制备而来, 细胞总量约为 5 × 10⁵ cells/瓶。

四、质量检测

人表皮角质形成细胞经 PCK 免疫荧光鉴定, 纯度可达 90%以上, 且不含有 HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

五、使用方法

人表皮角质形成细胞是一种贴壁细胞, 细胞形态呈上皮细胞样, 细胞可传 2-3 代; 建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

收到细胞后, 请按照以下方法进行操作。

1、取出 T25 细胞培养瓶, 用 75%酒精消毒瓶身, 拆下封口膜, 放入 37°C、5% CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中静置 3-4h, 以稳定细胞状态。

2、贴壁细胞消化

- 1) 吸出 T25 细胞培养瓶中的培养基, 用 PBS 清洗细胞一次;
- 2) 添加 0.25%胰蛋白酶消化液 1mL 至 T25 培养瓶中, 轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后, 吸出多余胰蛋白酶消化液, 37°C 温浴 1-3min;倒置显微镜下观察, 待细胞回缩变圆后, 再加入 5mL 完全培养基终止消化;
- 3) 用吸管轻轻吹打混匀, 按传代比例接种 T25 培养瓶传代, 然后补充新鲜的完全培养基至 5mL, 置于 37°C、5%CO₂、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养;
- 4) 待细胞完全贴壁后, 培养观察, 用于实验;之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。

3、细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性, 贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿(如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等)时, 需要对实验器皿进行包被, 以增强细胞贴壁性, 避免细胞因没贴好影响实验;包被条件常选用鼠尾胶原 I(2-5 μ g/cm²), 多聚赖氨酸 PLL(0.1mg/ml), 明胶(0.1%), 依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

六、注意事项

- 1、完全培养基 4°C 调价下可稳定储存 3 个月。
- 2、消化过程中, 胰酶消化时间不宜过长, 否则会影响细胞贴壁以及生长状态。
- 3、建议受到细胞后, 前 3 天内每个倍数各拍几张细胞照片, 记录细胞状态, 以便必要时与技术人员沟通。
- 4、由于运输的原因, 个别敏感细胞会出现不稳定的情况, 请及时与我们联系, 详细告知细胞的具体情况, 以便我们技术人员跟进。