

人肝星状细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CPH082
组织来源	人肝组织
细胞形态	长梭状、星状、多边形细胞样, 贴壁生长。
规格	5x10 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	建议每天换液一次。

二、细胞描述

人肝星状细胞 (Hepatic Stellate Cells, HSCs), 过去也被称为肝星形细胞或贮脂细胞 (Ito 细胞), 是肝脏中一种重要的非实质细胞, 位于肝窦内皮细胞与肝细胞之间的窦周隙 (Disse 间隙)。生理状态下, 其以静息形式存在, 胞质内脂滴储存全身约 80% 的维生素 A (以视黄醇棕榈酸酯形式), 参与维生素代谢及免疫调节; 同时低水平合成胶原蛋白 I/III、层粘连蛋白等细胞外基质 (ECM), 通过基质金属蛋白酶 (MMPs) 与抑制剂 (TIMPs) 维持 ECM 动态平衡, 支撑肝窦结构稳态; 细胞含肌动蛋白等收缩成分, 可响应去甲肾上腺素、内皮素 -1 等信号调节肝窦血流; 此外, 通过分泌肝细胞生长因子 (HGF) 促进肝细胞再生, 并通过 toll 样受体 (TLR) 等识别病原体, 分泌 TNF- α 、IL-6 等细胞因子参与免疫监视。病理状态下, 慢性肝损伤 (如肝炎、酒精 / 脂肪性肝病) 可触发其活化, 转化为高增殖、高收缩性的肌纤维细胞样表型: 脂滴消失, α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 大量表达, ECM 合成激增 (尤其是促纤维化的胶原蛋白 I), 同时抑制 MMPs 活性, 导致 ECM 过度沉积, 驱动肝纤维化甚至肝硬化; 活化细胞还通过分泌 IL-1 β 、CCL2 等加剧肝内炎症, 与库普弗细胞、NK 细胞互作放大损伤, 并在肝癌微环境中释放 TGF- β 、HGF 等, 促进肿瘤细胞侵袭与血管生成。因其在肝纤维化中的核心作用, 靶向 HSCs 活化通路 (如 TGF- β /Smad、JNK)、诱导细胞凋亡或逆转为静息态, 已成为肝病治疗的重要研究方向, 而 α -SMA、波形蛋白等亦作为纤维化诊断的关键标志物。

三、提取方法简介

人肝星状细胞采用酶消化结合差速贴壁法制备而来, 细胞总量约为 5 × 10⁵ cells/瓶。

四、质量检测

人肝星状细胞经 α -SMA 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

人肝星状细胞是一种贴壁细胞, 细胞形态呈长梭状、星状、多边形细胞样, 细胞可传 3 代左右; 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(2-5μg/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。