

人真皮成纤维细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CPH066
组织来源	人皮肤组织
细胞形态	成纤维细胞样, 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 5 代左右, 3 代以内最佳
传代比例	1:2
换液频率	每 2-3 天换液一次。

二、细胞描述

人真皮成纤维细胞分离自真皮组织; 真皮, 位于表皮深层, 向下与皮下组织相连, 真皮结缔组织的胶原纤维和弹性纤维互相交织在一起, 埋于基质内。其内分布着各种结缔组织细胞和大量的胶原纤维弹性纤维, 使皮肤既有弹性, 又有韧性。其由两层组成——乳头层与网状层。真皮的结构组成是胶原蛋白、弹性纤维以及基质。成纤维细胞 (Fibroblast) 是疏松结缔组织的主要细胞成分, 由胚胎时期的间充质细胞分化而来。成纤维细胞较大, 轮廓清楚, 多为突起的纺锤形或星形的扁平状结构, 其细胞核呈规则的卵圆形, 核仁大而明显。成纤维细胞功能活动旺盛, 细胞质嗜弱碱性, 具明显的蛋白质合成和分泌活动, 在一定条件下, 它可以实现跟纤维细胞的互相转化; 成纤维细胞对不同程度的细胞变性、坏死和组织缺损的修复有着十分重要的作用。刚分离的真皮成纤维细胞呈圆形、折光性良好, 悬浮于培养基中。30min 细胞贴壁, 其中部分开始伸出伪足, 表现为小的突起; 6h 后细胞基本贴壁完全, 伸展成梭形, 胞核清晰, 分布较均匀, 散在生长, 不聚集成团; 细胞生长迅速, 5-7 天即呈融合状态, 细胞排列紧密, 有的交叉重叠生长, 平坦、胞体较大, 细胞质透明, 细胞核较大, 呈椭圆形, 颜色淡。细胞融合, 并彼此连接成网状; 细胞呈突起的纺锤形或星形的扁平分布。真皮成纤维细胞在生理条件下的主要功能包括: 构造和维持组织的正常形态, 合成和释放细胞外基质以及组织损伤后及时大量聚集修复损伤组织。

三、提取方法简介

人真皮成纤维细胞采用先中性蛋白酶消化、后胰蛋白酶-胶原酶混合消化法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

人真皮成纤维细胞经 Vimentin 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

人真皮成纤维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(2-5μg/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。