

人真皮毛乳头细胞

一、细胞简介

货号	YFX-CPH087
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	建议每天换液一次。

二、细胞描述

人真皮毛乳头细胞分离自皮肤毛囊组织; 毛囊是表皮细胞连续形成的袋样上皮。真皮毛乳头细胞位于毛囊基底部, 是一类成纤维细胞。在毛囊发育早期, 真皮细胞向单层上皮细胞发出第一真皮信号, 刺激上皮局部形成毛基板。随后毛基板细胞向下方的真皮发出第一表皮信号, 诱导其形成有成纤维细胞组成的凝集细胞团。在此过程中, 毛母质细胞逐渐包裹凝集细胞团, 形成成熟的人真皮毛乳头细胞。作为毛囊中的重要细胞群, 真皮毛乳头细胞的分子机制和临床应用正在被逐渐认识和解析。

三、提取方法简介

人真皮毛乳头细胞采用胶原酶-中性蛋白酶混合消化法制备而来, 细胞总量约为 5×10^5 cells/瓶。

四、质量检测

人真皮毛乳头细胞经 Vimentin/ 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、细胞收到后处理方式

人真皮毛乳头细胞是一种贴壁细胞, 细胞形态呈成纤维细胞样, 细胞可传 5 代左右, 3 代以内效果最佳; 建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

1、收到细胞后, 请按照以下方法进行操作。

收到细胞后, 75%酒精消毒瓶壁将 T25 瓶置于 37℃ 培养箱放置约 2-3h, 若发现培养瓶破损、有液溢出及细胞有污染, 请拍照后及时联系我们。

2、请在显微镜下确认细胞状态, 同时给刚收到的细胞拍照 (物镜 4×, 10×) 各 2-3 张以及培养瓶外观照片一张留存, 作为售后时收到时细胞状态的依据。

3、贴壁细胞: 细胞在 37℃ 培养箱中放置 2-3h, 显微镜下观察细胞的生长和贴壁情况, 有些贴壁细胞在快递运送过程中会因振动脱落和脱落后成团的情况。若镜下观察细胞的生长密度若在 60%以下, 可去除培养瓶中灌液培养基 (若有未贴壁的细胞需要离心回收, 重悬打入到原培养瓶中), 加入新配制的完全培养基 6-8mL, 放到细胞培养箱中继续培养。若细胞生长密度达 70%-80%以上, 可以对细胞进行传代处理。传代过程中, 若因运输振动脱落的细

胞需要离心回收。

4、备注：运输用的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。收到细胞后第一次传代建议 T25 培养瓶 1: 2 传代。

六、细胞传代

- 1、在生物安全柜内，打开培养瓶瓶口，收集瓶内的培养基。
 - 2、向培养瓶内加入 3mL 无菌的 1×PBS，水平放置培养瓶，使 PBS 能够浸润到培养瓶底面上所有的面积，吸除 PBS。
 - 3、向瓶内加入 1mL 0.25%胰蛋白酶（含 EDTA），浸润底面后放入 37℃ CO₂ 培养箱中孵育 1~2min。
 - 4、将培养瓶倒置显微镜下观察细胞是否变圆飘起，若全部消化下来则直接向培养瓶内加入 2mL 完全培养基，将悬液吸入 15mL 离心管。
- 注：如还有部分细胞未消化下来，可采用分步消化：
- 1) 准备一个无菌的 15mL 离心管，加入 2mL 完全培养基。
 - 2) 将消化下来的细胞吸入上述离心管内中，向之前消化的培养瓶中加入 1mL 0.25%胰蛋白酶继续消化 2min 左右，轻拍培养瓶，待 95%以上的细胞脱落后加入 2mL 完全培养基，将细胞悬液移入到上述 15mL 离心管。
- 5、1000rpm 离心 5min，弃去上清，用 2mL 完全培养基重悬细胞。
 - 6、取 2 个 T25 细胞培养瓶，各加入 4mL 完全培养基，每瓶分别加入上述 1mL 重悬细胞液。
 - 7、水平放置培养瓶，震荡混匀后，37℃ 5% CO₂ 培养箱中静置培养。

七、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。

八、注意事项

- 1、完全培养基 4℃ 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。