

## 人真皮成纤维细胞（原代永生化）

Cat NO.: GCP-H103Y

### 一、产品简介

**产品名称** 人真皮成纤维细胞（原代永生化）

**组织来源** 皮肤组织

#### 细胞简介

人真皮成纤维细胞（原代永生化）是原代人真皮成纤维细胞经慢病毒转染的方式携带SV40T基因，经抗生素和传代筛选获得。人真皮成纤维细胞分离自皮肤组织内的真皮层；皮肤组织来源包括头部、脸部、手、脚、腿、背部、腹部、包皮等体表部位皮肤，可依据需求选用；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。30 min细胞贴壁，其中部分开始伸出伪足，表现为小的突起；6 h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。

#### 方法简介

普诺赛实验室分离的人真皮成纤维细胞（原代永生化）是原代人真皮成纤维细胞经慢病毒转染的方式携带SV40T基因，经抗生素和传代筛选获得，细胞总量约为 $5 \times 10^5$  cells/瓶。

#### 质量检测

普诺赛实验室分离的人真皮成纤维细胞（原代永生化）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。

#### 培养信息

携带基因	SV40T、puro
培养基	含FBS、生长添加剂、Penicillin、Streptomycin等
完培货号	GCM-H103Y
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	长梭形
传代特性	可传10代
传代比例	第一次1:2，之后1:2-1:3
消化液	0.25%胰蛋白酶

网站: [www.procell.com.cn](http://www.procell.com.cn)

电话: 400-999-2100

邮箱: [techsupport@procell.com.cn](mailto:techsupport@procell.com.cn)

地址: 湖北省武汉市高新大道858号生物医药产业园三期C4栋



培养条件 气相：空气，95%；CO<sub>2</sub>，5%

人真皮成纤维细胞（原代永生化）体外培养周期有限，建议使用普诺赛配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

人真皮成纤维细胞（原代永生化）是一种长梭形细胞，细胞形态呈贴壁，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传10代，建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作：

- 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% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4 h，以稳定细胞。
- 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1 mL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1-3 min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5 mL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5 mL，置于37°C、5% CO<sub>2</sub>、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。
- 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 μg/cm<sup>2</sup>），多聚赖氨酸PLL（0.1 mg/mL），明胶（0.1%），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

## 四、注意事项

- 培养基于4°C条件下可保存3个月。
- 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
- 消化过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
- 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和普诺赛技术部沟通；由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
- 该细胞只可用于科研。

**备注：**由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考

