



角质形成细胞培养系统

皮肤由两层组成：真皮和表皮，每一层都具有独特的成分和功能。皮肤的表皮或最外层主要由上皮细胞组成，特别是角质形成细胞，它们形成多个分层并能产生可增强皮肤硬度和防水功能的角蛋白。表皮还包含其他细胞类型，包括黑色素细胞和朗格汉斯细胞，与角质形成细胞建立紧密而关键的联系，从而在皮肤发育和正常生长维持过程中发挥各种功能。

Gibco™角质形成细胞培养产品，包括不含任何动物源性成分的产品，如牛垂体提取物（BPE）、血清或任何其他通常从动物来源纯化的成分。这些产品统称为不含动物源性成分的产品并缩写为AOF。Gibco™无动物源性成分的产品不包含直接来自哺乳动物（包括人类）、鱼类、鸟类、昆虫等高级真核生物的动物组织、细胞或体液的物质。请访问thermofisher.com/primarycells，以获取完整的Gibco™原代细胞技术和服务概述。

人表皮角质形成细胞的鉴定

每批人表皮角质形成细胞（HEK）都在我们的实验室内进行了细胞活率和生长潜力性能测试。此外还测试了潜在生物污染物（HIV-1、乙型肝炎和丙型肝炎病毒、支原体、细菌、酵母和其他真菌）。

通过测试并准许销售的解冻细胞均需符合以下标准

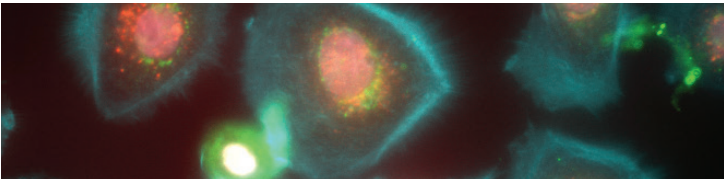
- 第一次培养后冻存的细胞数 > 500,000 细胞/管
- > 70% 细胞存活率，且检测不到潜在生物污染物
- > 25 代细胞倍增 HEKa (成年人角质细胞)
- > 30 代细胞倍增 HEKn (新生人角质细胞)
- 经优化后获得比其他市面同类产品更卓越的性能

角质细胞研究应用

研究应用	
基础皮肤生物学/生理学	高通量筛选
化妆品/消费品测试	黑色素瘤研究
皮肤研究和模型	病原体和屏障功能研究
药物/化合物筛选	毒性测试
生发和织发	

选择合适的培养系统

细胞培养条件	推荐产品
完全培养基系统, 不含BPE	<ul style="list-style-type: none">• 细胞—HEKn或HEKa• 基础培养基— Defined Keratinocyte-SFM (1X)• 试剂—胰蛋白酶/ EDTA, 胰蛋白酶中和剂, 庆大霉素/两性霉素, Synth-a-Freeze冻存培养基
无动物源性成分 (AOF)、化学成分明确的环境, 以延长培养寿命	<ul style="list-style-type: none">• 细胞—HEKn-AOF 或 HEKa-AOF• 基础培养基—EpiLife培养基• 生长添加剂—添加剂S7• 试剂—重组胰蛋白酶/EDTA, 化学成分明确的胰蛋白酶抑制剂, 庆大霉素/两性霉素, Gibco™ Synth-a-Freeze™冻存培养基, 包被基质试剂盒
化学成分明确的环境, 以延长培养寿命	<ul style="list-style-type: none">• 细胞—HEKn或HEKa• 基础培养基-EpiLife培养基• 生长添加剂—EDGS• 试剂—胰蛋白酶/ EDTA, 化学成分明确的胰蛋白酶抑制剂, 庆大霉素/两性霉素, Synth-a-Freeze冻存培养基
含BPE的环境, 以延长培养寿命	<ul style="list-style-type: none">• 细胞—HEKn或HEKa• 基础培养基—EpiLife培养基• 生长添加剂—HKGS• 试剂—胰蛋白酶/ EDTA, 胰蛋白酶中和剂, 庆大霉素/两性霉素, Synth-a-Freeze冻存培养基
含BPE的环境中, 以实现标准培养寿命	<ul style="list-style-type: none">• 细胞—HEKn或HEKa• 基础培养基—154培养基• 生长添加剂—HKGS• 试剂—胰蛋白酶/EDTA, 胰蛋白酶中和剂, 庆大霉素/两性霉素, Synth-a-freeze冻存培养基



1. 人表皮角质形成细胞 (HEK), 新生儿细胞HEKn, 冻存
从新生儿包皮分离出的正常人表皮角质形成细胞, 在原代培养结束时冻存。

规格	货号
1管 (>500,000个活细胞)	C-001-5C

2.HEKn-AOF, 新生儿细胞, AOF, 冻存
从新生儿包皮分离出的正常人表皮角质形成细胞, 生长至原代培养结束时冻存在无动物源性成分的环境中。为确保在无动物源性成分环境中培养时获得最佳性能, 建议使用包被基质试剂盒 (货号R-011-K) 包被培养表面。

规格	货号
1管 (>500,000个活细胞)	C-020-5C

3.HEKp, 新生儿细胞, 混合型, 冻存
从4-6名新生儿包皮中分离出正常人表皮角质形成细胞并混合, 原代培养阶段结束时冻存在含10% DMSO的AOF培养基中。

规格	货号
1 管 (>1,000,000 个活细胞)	A13401

4.人表皮角质形成细胞 (HEK), 成人细胞HEKa, 冻存
从成人皮肤中分离出正常人表皮角质形成细胞, 在原代培养阶段结束时冻存。

规格	货号
1管 (>500,000个活细胞)	C-005-5C

5.HEKa-AOF, 成人细胞, AOF, 冻存
从成人皮肤中分离出的正常人表皮角质形成细胞, 生长至原代培养结束时冻存在无动物源性成分环境中。为确保在无动物源性成分环境时获得最佳性能, 建议使用包被基质试剂盒 (货号R-011-K) 包被培养表面。

规格	货号
1管 (>500,000个活细胞)	C-021-5C

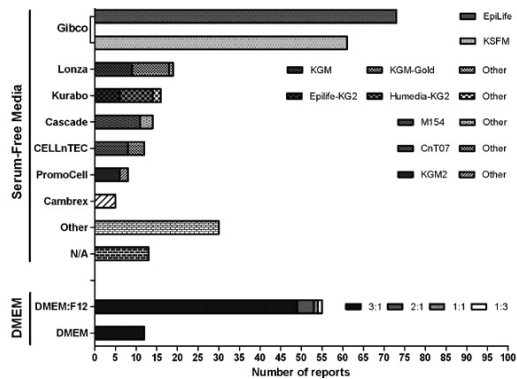
角质形成细胞基础培养基

我们可提供三种不同的培养系统，1) Defined 无血清角质细胞完全培养基，使用方便，不含BPE，无需饲养层。2) EpiLife培养基专为延长角质形成细胞寿命而设计。3) 如果培养所需终点为分化，154培养基可提供更好的结果。培养基不含抗生素或抗真菌剂。



1.1) Defined 角质细胞无血清培养基, Defined Keratinocyte-SFM (1X)

该培养基是一种完全无血清培养基，包括角质细胞无血清基础培养基和生长添加剂，不含牛垂体提取物BPE。BPE的促生长活性被加入促生长剂所取代，提高了产品性能的一致性。该培养基旨在抑制成纤维细胞的增殖，且钙浓度低 (0.1 mM)，可分离和培养高度富集的未分化角质形成细胞。建议使用包被基质试剂盒 (货号R-011-K) 包被培养表面。该培养基也可用于内皮细胞的培养。



以上数据来自于文献Isolation and culture of human primary keratinocytes-a methods review. Exp Dermatol. 2019。比较在最常用角质细胞培养基中的细胞数目。数据显示在Eplife (请参考下文信息) 或 KSFM中培养的角质细胞数目，相较于其他类培养基，可获得更高的细胞数目。

规格	货号
500 mL	10744019

1.2) 角质细胞无血清培养基, Keratinocyte-SFM (1X), 含L-谷氨酰胺, 含氯化钙

规格	货号
500 mL	10725018

2.1) EpiLife 培养基, 含60 μM 氯化钙

使用EpiLife不含血清、化学成分明确、不含动物源性成分的细胞培养基，可帮助您获得最丰富的细胞培养研究数据。该培养基可延长原代细胞的体外培养寿命，是其他无血清配方的两倍。含有60 μM氯化钙，单次添加即可，方便使用。配合合适的添加剂使用时，是支持正常人角质形成细胞和其他类型上皮细胞的分离、生长和存活的理想选择。

规格	货号
500 mL	M-EPI-500-CA

Fig. 1a HEKn

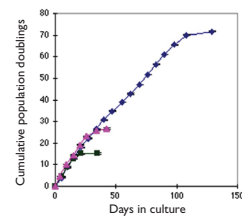


Fig. 1b HEKa

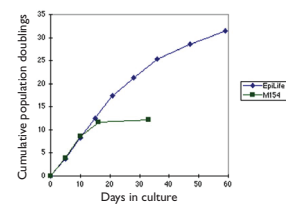


图1a-1b:EpiLife™支持并延长新生儿(1a)和成人(1b)角质形成细胞的寿命。冻存的人正常原表皮角质形成细胞(新生儿, HEKn, 1a; 或成年HEKa, 1b)经解冻并以2500个细胞/cm2进行铺板，加入含有人角质形成细胞生长补充剂(HKGS)的EpiLife™培养基，或标准无血清角质形成细胞培养基:培养基154 (M154)补充HKGS (1a和1b)，或KGM-2 (1a)。当细胞密度达到近似时80%融合后进行细胞数量统计。数据显示在Eplife中培养可存活更长时间。

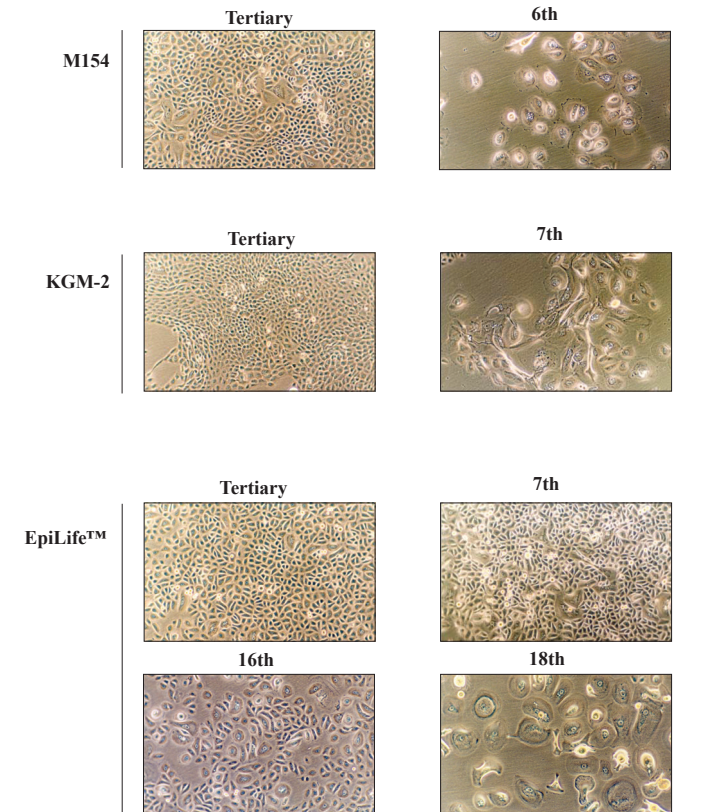


图: 在EpiLife™培养的角质形成细胞维持正常的上皮形态和并在更高的细胞倍增中表现出衰老的特点。上图显示在不同培养基中细胞形态的显微照片。

2.2) EpiLife CF (无钙) 培养基

一种无菌液体培养基, 不含氯化钙[†], 可用于人表皮角质形成细胞的长期无血清培养。在使用前需要添加钙和适当的生长添加剂。每瓶培养基均提供独立包装的氯化钙成分。

规格	货号
500 mL	M-EPICF-500

2.3) EpiLife CF/PRF (无钙, 无酚红) 培养基

一种无菌液体培养基, 不含氯化钙[†]或酚红, 可用于人表皮角质形成细胞的长期无血清培养。使用前需要添加钙和适当的生长添加剂。每瓶培养基均提供独立包装的氯化钙成分。

规格	货号
500 mL	M-EPICFPRF-500

[†]在无添加剂的EpiLife CF和CF/PRF培养基中, 其他来源产品的钙浓度为0.65 μM。

3.1) 154培养基

一种无菌液体培养基, 用于人表皮角质形成细胞的无血清培养。使用前需要添加HKGS (货号S-001-5) 或HKGS试剂盒 (货号S-001-K)。包含200 μM氯化钙。

规格	货号
500 mL	M-154-500

3.2) 154CF培养基 (无钙)

一种无菌液体培养基, 用于人表皮角质形成细胞的无血清培养。不含氯化钙[†]的154培养基。[†]使用前需要添加钙和HKGS (货号S-001-5) 或HKGS试剂盒 (货号S-001-K)。每瓶培养基均提供独立包装的氯化钙成分。

规格	货号
500 mL	M-154CF-500

3.3) 154CF/PRF培养基 (无钙, 无酚红)

一种无菌液体培养基, 用于人表皮角质形成细胞的无血清培养。不含氯化钙[†]或酚红的154培养基。使用前需要添加钙和HKGS (货号S-001-5) 或HKGS试剂盒 (货号S-001-K)。每瓶培养基均提供独立包装的氯化钙成分。

规格	货号
500 mL	M-154CF-500

[†]在无添加剂的154CF和154CF/PRF培养基中, 其他来源产品的钙浓度为0.5 μM。

用于角质形成细胞的生长添加剂

只有试剂盒形式的添加剂含有抗生素和抗真菌剂。



1) 人角质形成细胞生长添加剂 (HKGS)

一种无菌浓缩 (100X) 溶液, 专用于搭配EpiLife培养基或154培养基以培养人表皮角质形成细胞。包含牛垂体提取物 (BPE)、[†]人表皮生长因子、皮质醇、重组人胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 和转铁蛋白。

规格	货号
500 mL	M-EPICF-500

[†]BPE仅来自于新西兰。

2) 人角质形成细胞生长添加剂 (HKGS) 试剂盒

一种无菌溶液套装, 专用于搭配EpiLife 培养基或154培养基使用以培养人表皮角质形成细胞。提供全部HKGS组分, 每种组分均为独立包装, 具体包括: 牛垂体提取物 (BPE)、^{*}人表皮生长因子、皮质醇、重组人胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 和转铁蛋白。另外, 还提供一瓶庆大霉素/两性霉素B溶液 (GA)。GA溶液为选用。

规格	货号
500 mL	M-EPICF-500

^{*}BPE仅来自于新西兰。

3) S7添加剂

一种化学成分明确、无菌、无动物源性成分、浓缩 (100X) 的离子平衡溶液, 专用于搭配EpiLife培养基以培养人表皮角质形成细胞 (不适用于与154培养基一起使用)。每瓶5 mL的S7添加剂适用于500 mL瓶装EpiLife基础培养基。为获得最佳性能, 建议与我们的包被基质试剂盒 (货号R-011-K) 一起使用。

规格	货号
500 mL	M-EPICF-500

4) EpiLife化学成分明确的生长添加剂 (EDGS)

一种化学成分明确、无菌、100X溶液, 专用于搭配EpiLife培养基以培养人表皮角质形成细胞 (不适用于154培养基)。包含BSA、牛转铁蛋白、rhIGF-1、rhEGF、皮质醇和PGE-2 (合型)。为获得最佳性能, 建议与我们的包被基质试剂盒 (货号R-011-K) 一起使用。

规格	货号
500 mL	M-EPICF-500

5) 角质形成细胞AOF生长试剂盒

可用于无动物源性成分的人角质形成细胞培养。包括EpiLife基础培养基、S7添加剂和包被基质试剂盒。

规格	货号
500 mL	M-EPICF-500

更多文献请参考:

1. Fortunel NO, Chadli L, Coutier J, et al. KLF4 inhibition promotes the expansion of keratinocyte precursors from adult human skin and of embryonic-stem-cell-derived keratinocytes. *Nat Biomed Eng.* 2019;3(12):985-997. (Defined Keratinocyte-SFM)
2. Freije A, Sanz-Gómez N, Gandarillas A. Genetic Modification of Human Primary Keratinocytes by Lentiviral Vectors. *Methods Mol Biol.* 2020;2109:113-123. (Defined Keratinocyte-SFM)
3. Shwetha HR, Kotrashetti VS, Babu NC, Kumbar V, Bhat K, Reddy R. Ex vivo culture of oral keratinocytes using direct explant cell culture technique. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2019;23(2):243-247. (Defined Keratinocyte-SFM)
4. Sesartić M, Ikenberg K, Yoon SY, Detmar M. Keratinocyte-Expressed Podoplanin is Dispensable for Multi-Step Skin Carcinogenesis. *Cells.* 2020;9(6):E1542. (Defined Keratinocyte-SFM)
5. Persson ST, Hauri S, Malmström J, Herwald H. Leucocyte recruitment and molecular fortification of keratinocytes triggered by streptococcal M1 protein. *Cell Microbiol.* 2018;20(1):10.1111/cmi.12792. (Defined Keratinocyte-SFM)
6. Re S, Dogan AA, Ben-Shachar D, et al. Improved Generation of Induced Pluripotent Stem Cells From Hair Derived Keratinocytes - A Tool to Study Neurodevelopmental Disorders as ADHD. *Front Cell Neurosci.* 2018;12:321. (Defined Keratinocyte-SFM)
7. Li PD, Liu Z, Cheng TT, et al. Redox-dependent modulation of metformin contributes to enhanced sensitivity of esophageal squamous cell carcinoma to cisplatin. *Oncotarget.* 2017;8(37):62057-62068. (Defined Keratinocyte-SFM + Eplife)
8. Seo A, Kitagawa N, Matsuura T, Sato H, Inai T. Formation of keratinocyte multilayers on filters under airlifted or submerged culture conditions in medium containing calcium, ascorbic acid, and keratinocyte growth factor. *Histochem Cell Biol.* 2016;146(5):585-597. (Eplife)
9. Bak SS, Kwack MH, Shin HS, Kim JC, Kim MK, Sung YK. Restoration of hair-inductive activity of cultured human follicular keratinocytes by co-culturing with dermal papilla cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;505(2):360-364. (Eplife)
10. Shrestha R, Wen YT, Tsai RK. Generation of hiPSC line TCIERi001-A from normal human epidermal keratinocytes. *Stem Cell Res.* 2019;41:101590. (Eplife)
11. Gao L, Dou J, Zhang B, et al. Ozone therapy promotes the differentiation of basal keratinocytes via increasing Tp63-mediated transcription of KRT10 to improve psoriasis. *J Cell Mol Med.* 2020;24(8):4819-4829. (Medium 154)
12. Cartner T, Brand N, Tian K, et al. Effect of different alcohols on stratum corneum kallikrein 5 and phospholipase A2 together with epidermal keratinocytes and skin irritation. *Int J Cosmet Sci.* 2017;39(2):188-196. (Medium 154)

更多角质细胞培养信息, 请访问 <https://www.thermofisher.com/cn/zh/home/life-science/cell-culture/primary-cell-culture/keratinocyte-culture.html>



赛默飞
官方微信



赛默飞
生命科学小助手

免费服务电话: 800 820 8982/400 820 8982
信息咨询邮箱: cnbidmarketing@thermofisher.com

ThermoFisher
SCIENTIFIC