

生命科学实验指南系列

上皮细胞 培养指南

〔英〕 克莱尔·怀斯 主编
段恩奎 王莉 主译 王建辰 主审



科学出版社
www.sciencep.com

生命科学实验指南系列

上皮细胞培养指南

〔英〕克莱尔·怀斯 主编

段恩奎 王 莉 主译

王建辰 主审

科学出版社

北 京

图字: 01-2003-4113

内 容 简 介

近十年来,上皮细胞分离和培养的研究取得了重大进展,涌现出许多新技术。本书涵盖了常规方法和专业方法,藉此为多种上皮细胞培养技术提供全面的、循序渐进的指导。书中内容包括不同组织和不同种属的原代细胞的建立和维持,重点介绍了对上皮细胞进行深入分析和检测的方法,如:对细胞凋亡和整联蛋白的分析,以及对膜电容和细胞生长融合的检测。应用不同的共培养技术,还可能开发出不同的体外研究系统。书中有些章节涉及了这一内容,如:血-脑屏障模型、研究上皮细胞与细菌相互作用的系统以及药物吸收模型。本书还介绍了上皮细胞培养应用于烧伤以及其他皮肤疾病的治疗。

本书适于初次接触上皮细胞培养领域、学习常规培养技术的人员参考,而且对那些需要更全面、更专业方法的研究人员以及临床医生也会有所帮助。

Epithelial Cell Culture Protocols

The original English language work has been published by HUMANA PRESS, Totowa, New Jersey, U. S. A

©2002 by Humana Press. All rights reserved.

图书在版编目(CIP)数据

上皮细胞培养指南/(英)怀斯(Wise, C.)主编;段恩奎,王莉主译.——北京:科学出版社,2005

(生命科学实验指南系列)

ISBN 7-03-016050-9

I. 上… II. ①怀… ②段… ③王… III. 人体-细胞培养-指南
IV. Q813.1-62

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 086637 号

责任编辑:莫结胜 彭克里 席慧/责任校对:张怡君

责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂 印刷

科学出版社编务公司排版制作

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005年10月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2005年10月第一次印刷 印张:20

印数:1~2 500 字数:433 000

定价:62.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

编者

- Per Artursson 瑞典乌普萨拉大学制药学部(Division of Pharmaceutics, Uppsala University, Uppsala, Sweden)
- Carol A. Bertrand 美国宾夕法尼亚州匹兹堡医学院细胞生物学与生理学系 (Department of Cell Biology and Physiology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, PA)
- Tsutomu Chiba 日本京都大学医学研究所肝胃肠病学系 (Department of Gastroenterology and Hepatology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan)
- Ben Forbes 英国伦敦皇家学院药理学系 (Department of Pharmacy, King's College London, London, UK)
- Rolf Gebhardt 德国莱比锡大学医学院生物化学研究所 (Institute of Biochemistry, Medical Faculty, University of Leipzig, Leipzig, Germany)
- Andrew P. Gilmore 英国曼彻斯特大学生物科学院 (School of Biological Sciences, University of Manchester, Manchester, UK)
- Johan Gråsjö 瑞典乌普萨拉大学制药学部 (Division of Pharmaceutics Uppsala University, Uppsala, Sweden)
- Albert Guidry 美国农业部(美国马里兰贝兹维尔)免疫学与疾病防治实验室 (Immunology and Disease Resistance Laboratory, US Department of Agriculture, Beltsville, MD)
- Ken-Ichiro Hata 日本名古屋大学医学院组织工程系 (Department of Tissue Engineering, Nagoya University School of Medicine, Nagoya City, Japan)
- Chieko Hemmi 日本东京大学健康服务中心 (Health Service Center, University of Tokyo, Tokyo, Japan)
- Yoshitaka Hibino 日本名古屋大学医学院组织工程系 (Department of Tissue Engineering, Nagoya University School of Medicine, Nagoya City, Japan)
- Kairbaan Hodivala-Dilke 英国伦敦 Richard Dimbleby 癌症研究部/皇家癌症基金, 细胞黏附与疾病实验室 (Cell Adhesion and Disease Laboratory, The Richard Dimbleby Department of Cancer Research/Imperial Cancer Research Fund, London, UK)
- Ulrich Hopfer 美国俄亥俄州 Case Western Reserve University 生理学与生物物理学系 (Department of Physiology and Biophysics, Case Western

- Reserve University, Cleveland, OH)
- Masayoshi Hosoda** 日本仙台 Tohoku 医学院老年与呼吸医学系 (Department of Geriatric and Respiratory Medicine, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan)
- David L. Hudson** 英国伦敦大学医学院泌尿学研究所 (UCLH Medical School, London, UK)
- Nobuhiro Ibaraki** 日本千叶日本医学院千叶 Hokusoh 医院眼科 (Department of Ophthalmology, Chiba Hokusoh Hospital, Nippon Medical School, Chiba, Japan)
- Nicola Jones** 加拿大多伦多大学患病儿童医院研究所胃肠病与营养部 (Division of Gastroenterology and Nutrition, Research Institute, Hospital for Sick Children, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada)
- Philip H. Karp** 美国艾奥瓦州大学医学院内科系 Howard Hughes 医学所 (Howard Hughes Medical Institute, Department of Internal Medicine, University of Iowa College of Medicine, Iowa City, IA)
- Yoshitaka Konda** 日本京都大学医学研究所肝胃肠病学系 (Department of Gastroenterology and Hepatology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan)
- Norio Kumagai** 日本川崎圣玛里娜大学医学院整形外科系 (Department of Plastic and Reconstructive Surgery, St. Marianna University School of Medicine, Kawasaki, Japan)
- Janice L. Lanspach** 美国艾奥瓦州大学医学院内科系 Howard Hughes 医学所 (Howard Hughes Medical Institute, Department of Internal Medicine, University of Iowa College of Medicine, Iowa City, IA)
- Vincent H. L. Lee** 美国南加利福尼亚大学洛杉矶分校药学院制药学系 (Pharmaceutical Research, School of Pharmacy, University of Southern California, Los Angeles, CA)
- Simon A. Lewis** 美国得克萨斯医学分院生理与生物物理学系 (Department of Physiology and Biophysics, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX)
- Tohru Masui** 日本国家健康科学研究所遗传学与变异学部 (Division of Genetics and Mutagenesis, National Institute of Health Sciences, Tokyo, Japan)
- Derek M. McKay** 加拿大汉密尔顿 McMaster 大学小肠疾病研究组 (Intestinal Disease Research Programme, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada)
- Thomas O. Moninger** 美国艾奥瓦州大学医学院电子显微镜系 (Central Electron Microscopy Facility, University of Iowa College of Medicine,

	Iowa City, IA)
Tuua Mustonen	芬兰赫尔辛基大学生物技术研究所 (Institute of Biotechnology, University of Helsinki, Helsinki, Finland)
Tamara S. Nesselhauf	美国艾奥瓦州大学医学院内科系 (Department of Internal Medicine, University of Iowa College of Medicine, Iowa City, IA)
Celia O'Brien	美国农业部(美国马里兰贝兹维尔)免疫学与疾病防治实验室 (Immunology and Disease Resistance Laboratory, US Department of Agriculture, Beltsville, MD)
Goran Ocklind	瑞典乌普萨拉大学制药学部 (Division of Pharmaceutics, Uppsala University, Uppsala, Sweden)
Mary H. Perdue	加拿大汉密尔顿 McMaster 大学小肠疾病研究组 (Intestinal Disease Research Programme, McMaster University, Hamilton, Ontario, Canada)
Dieter Reissig	德国莱比锡大学医学院解剖学研究所 (Institute of Anatomy, Medical Faculty, University of Leipzig, Leipzig, Germany)
Godfried M. Roomans	瑞典乌普萨拉大学医学细胞生物学系 (Department of Medical Cell Biology, Uppsala University, Uppsala, Sweden)
Carsten Röpke	丹麦哥本哈根 Panum 学院医学解剖学系 (Institute of Medical Anatomy, The Panum Institute, Copenhagen, Denmark)
Joachim Rychly	德国罗斯托克大学内科系 (Department of Internal Medicine, University of Rostock, Rostock, Germany)
Carin Sahlberg	芬兰赫尔辛基大学牙科研究所 (Institute of Dentistry, University of Helsinki, Helsinki, Finland)
Hidetaka Sasaki	日本仙台 Tohoku 医学院老年与呼吸医学系 (Department of Geriatric and Respiratory Medicine, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan)
Jie Shen	美国加利福尼亚州欧文 Allergan 公司药代动力学与药物代谢 (Pharmacokinetics and Drug Metabolism, Allergan, Inc., Irvine, CA)
Philip M. Sherman	加拿大多伦多大学患病儿童医院胃肠病科 (Division of Gastroenterology, Hospital for Sick Children, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada)
Wee Soo Shin	日本东京大学健康服务中心 (Health Service Center, University of Tokyo, Tokyo, Japan)
Alphonse E. Sirica	美国弗吉尼亚联邦大学弗吉尼亚校医学院细胞和分子病原学科病理学系 (Department of Pathology, Division of Cellular and Molecular Pathogenesis, Medical College of Virginia Campus, Virginia Commonwealth University, Richmond, VA)
George Stoica	美国得克萨斯工学院兽病原生物学系 (Department of

	Veterinary Pathobiology, Texas A&M University, College Station, TX)
Charles H. Streuli	英国曼彻斯特大学生物科学院 (School of Biological Sciences, University of Manchester, Manchester, UK)
Yukio Sumi	日本名古屋 Daini 红十字医院牙科和口腔与颌面骨外科 (Department of Dentistry and Oral & Maxillofacial Surgery, Nagoya Daini Red Cross Hospital, Nagoya City, Japan)
Tomoko Suzuki	日本仙台 Tohoku 医学院老年与呼吸医学系 (Department of Geriatric and Respiratory Medicine, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan)
Jan Taipalensuu	瑞典乌普萨拉大学制药学部 (Division of Pharmaceutics, Uppsala University, Uppsala, Sweden)
Staffan Tavelin	瑞典乌普萨拉大学制药学部 (Division of Pharmaceutics, Uppsala University, Uppsala, Sweden)
Irma Thesleff	芬兰赫尔辛基大学生物技术研究所 (Institute of Biotechnology, University of Helsinki, Helsinki, Finland)
Teruhiko Toyo-oka	日本东京大学医学院健康服务中心器官病理生理系与内科系 (Department of Organ Pathophysiology and Internal Medicine, Health Service Center, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, Japan)
Minoru Ueda	日本名古屋大学医学院口腔与颌面骨外科系 (Department Oral & Maxillofacial Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya City, Japan)
S. Pary Weber	美国艾奥瓦州大学医学院内科系 Howard Hughes 医学所 (Howard Hughes Medical Institute, Department of Internal Medicine, University of Iowa College of Medicine, Iowa City, IA)
Michael J. Welsh	美国艾奥瓦州大学医学院内科系 Howard Hughes 医学所 (Howard Hughes Medical Institute, Department of Internal Medicine, University of Iowa College of Medicine, Iowa City, IA)
Norihiro Yamada	日本仙台 Tohoku 医学院老年与呼吸医学系 (Department of Geriatric and Respiratory Medicine, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan)
Mutsuo Yamaya	日本仙台 Tohoku 医学院老年与呼吸医学系 (Department of Geriatric and Respiratory Medicine, Tohoku University School of Medicine, Sendai, Japan)
Joseph Zabner	美国艾奥瓦州大学医学院内科系 (Department of Internal Medicine, University of Iowa College of Medicine, Iowa City, IA)
Sebastian Zellmer	德国莱比锡大学医学院生物化学研究所 (Institute of Biochemistry, Medical Faculty, University of Leipzig, Leipzig,

Germany)

Qiuqu Zhao

美国纽约哥伦比亚大学公共健康学院环境健康科学系
(Division of Environmental Health Sciences, School of Public
Health, Columbia University, New York, NY)

Wei Zheng

美国纽约哥伦比亚大学公共健康学院环境健康科学系
(Division of Environmental Health Sciences, School of Public
Health, Columbia University, New York, NY)

参加翻译、校对人员

(排名不分先后)

段恩奎	刘为敏	曹宇静	王 莉	铁国栋	刘泽隆
李素敏	张 键	王希朝	戴博杰	黄文耿	任培根
周家喜	沈 政	李 晶	杨勇军	范秀军	贾莉玮
赵田夫	胡 增	彭 莎	赵 平		

译者序

2002 年 11 月初, 美国 Kansas 市仍然没有冬天的寒意, 在对 Stowers Institute for Medical Research 访问之余, 我和祝诚先生仍然没有忘记到书店转转。当时我们研究组正在从事胎儿表皮干细胞的分离与鉴定工作, 遇到的第一个难题就是如何提高上皮细胞培养效率。

在 Kansas 市的书店里, 看到 Clare Wise 主编、Humana Press 刚刚出版的分子生物学方法之第 188 卷《上皮细胞培养指南》(*Epithelial Cell Culture Protocols, Methods in Molecular Biology Series, Volume 188*), 我兴奋不已、如获至宝。这本由来自美国、英国、德国、加拿大、瑞典、芬兰、丹麦、日本等 58 位科学家共同完成的著作, 系统地介绍了晶状体、导气管、胃黏膜、胸腺、胆管、肝脏、肺脏、前列腺、乳腺上皮和血管内皮细胞的培养方法及步骤, 同时还介绍了许多重要的细胞和组织共培养模型及其应用, 读来令人耳目一新, 使我立刻产生了购买此书的念头。

回国后, 此书也同样引起了同事和学生们的浓厚兴趣, 由于国内尚未发现这类专著, 大家一致希望将其翻译出来, 供从事相关科研和教学的科技工作者和学生学习借鉴。由于需求导向, 我的同事和学生参与的积极性很高, 也吸引了组外甚至动物研究所外一些研究生加盟翻译, 仅一个寒假就分头完成了第一稿。开学后此稿用于研究生自学课程, 大家就翻译的 31 章内容轮流进行了交流, 也为统一专业术语和翻译体例奠定了基础。随后将此书的背景向科学出版社李锋主任进行了介绍, 得到了他的鼓励和支持, 遂建议由科学出版社负责购买中译本版权, 并予以出版。我们三修其稿, 最终由王建辰教授仔细审查把关, 才使本书有机会与读者见面。

在本译著出版之际, 特向所有参与翻译和审订的专家、学者和研究生表示感谢, 感谢他们一丝不苟的精神和为此付出的辛劳, 同时, 也向科学出版社表示感谢!

由于书中涉及不少生物学、医学以外的专业术语, 加之译者专业知识和翻译水平所限, 译著中错误之处在所难免, 恳请读者朋友批评指正。

段恩奎

2005 年 8 月 22 日于北京

前言

近十年来,关于上皮细胞分离和培养的研究取得了重大进展,涌现出许多新技术。单层上皮细胞培养可用于评价细胞的特性和行为,而模型系统中上皮细胞的应用,使我们能够更深入地理解细胞和分子机制及其相互作用。我们将常规方法 and 专业方法同时编入本书,借此为多种上皮细胞培养技术提供全面的、循序渐进的指导。《上皮细胞培养指南》不仅针对初次接触该领域、学习常规培养技术的人,而且对那些需要更全面、更专业方法的研究人员也会有帮助。本书不仅对上皮细胞培养具有重要的参考价值,而且是《分子生物学方法》系列丛书中其他细胞培养相关书籍的补充。

《上皮细胞培养指南》涉及的大量研究方法主要针对研究人员,但也有少部分是针对临床医生的。其内容包括不同组织和不同种属的原代细胞的建立和维持。本书重点强调了对上皮细胞进行深入分析和检测的方法,例如,对细胞凋亡和整联蛋白的分析,以及对膜电容和细胞生长融合的检测。应用不同的共培养技术,还可能开发出不同的体外研究系统。本书的一些章节涉及了这一内容,例如,血-脑屏障模型,研究上皮细胞与细菌相互作用的系统,以及药物吸收模型。从临床应用角度上来说,在上皮细胞培养方面最令人振奋的进展之一是将这些细胞应用于烧伤以及其他皮肤疾病的治疗上,本书对此也有所涉及。

在此,感谢在《上皮细胞培养指南》编写过程中给予帮助的人们,尤其是参与编写工作的所有作者,感谢他们将自己的工作和经验拿出来分享,也感谢他们对我的大力支持。感谢 John Walker 先生的帮助,他在我最需要帮助的时候给予迅速回复,感谢他在最初邀请我编写本书时给予的信任。感谢 NIMR 为我提供了编写资料,感谢 Robin Lovell-Badge 先生的鼓励和支持。最后,感谢 Juan Pedro Martinez-Barbera 先生的建议及其在我枯坐编写时给予的耐心。

克莱尔·怀斯(Clare Wise)

(杨勇军 译)

目 录

编者

参加翻译、校对人员

译者序

前言

第 1 章 人晶状体上皮细胞的培养	1
1 引言	1
2 材料	1
3 方法	2
3.1 外植体培养	2
3.2 收集细胞	3
3.3 细胞传代	3
3.4 细胞冻存	3
3.5 细胞运输	3
4 注意事项	4
参考文献	5
第 2 章 人导气管上皮细胞的培养	6
1 引言	6
2 材料	7
2.1 培养器皿的包被	7
2.2 人气管上皮细胞的培养	7
2.3 人气管黏膜下层腺体的培养	8
3 方法	9
3.1 培养器皿的包被	9
3.2 人气管上皮细胞的培养	9
3.3 人气管黏膜下层腺细胞的培养	10
参考文献	12
第 3 章 大鼠胃黏膜上皮细胞的培养	13
1 引言	13
1.1 新生大鼠胃上皮细胞原代培养	13
2 材料	14
2.1 新生大鼠胃上皮细胞原代培养	14
2.2 成年大鼠胃上皮细胞原代培养	14
3 方法	14
3.1 新生大鼠胃上皮细胞原代培养	14
3.2 成年大鼠胃上皮细胞原代培养	15
3.3 源自大鼠胃的非转化上皮细胞系	15

3.4 源自小鼠胃的非转化上皮细胞系·····	16
4 注意事项·····	17
参考文献·····	17
第4章 胸腺上皮细胞的培养 ·····	19
1 引言·····	19
2 材料·····	19
2.1 新生小鼠胸腺上皮细胞的无血清培养·····	19
2.2 胎鼠胸腺上皮细胞无血清培养·····	20
2.3 人胸腺上皮细胞的无血清培养·····	21
3 方法·····	21
3.1 新生小鼠胸腺上皮细胞无血清培养·····	21
3.2 胎鼠胸腺上皮细胞的无血清培养·····	22
3.3 人胸腺上皮细胞的无血清培养·····	23
4 注意事项·····	24
参考文献·····	25
第5章 胆管上皮细胞的培养 ·····	26
1 引言·····	26
2 材料·····	26
2.1 胆管结扎大鼠非转化性高度分化的胆管上皮细胞的分离和培养·····	26
2.2 基质·····	28
2.3 胆管结扎/呋喃处理大鼠非转化性高度分化的胆管上皮的分离和培养·····	29
3 实验方法·····	30
3.1 胆管结扎大鼠肝脏非转化性高度分化的胆管上皮细胞的分离培养·····	30
3.2 胆管结扎/呋喃饲喂大鼠非转化性高度分化的胆管上皮细胞的分离培养·····	33
3.3 从呋喃诱导的转移性胆管瘤建立一个新的大鼠胆管瘤细胞系·····	34
4 注意事项·····	34
参考文献·····	35
第6章 肝脏上皮细胞的培养 ·····	37
1 引言·····	37
2 材料·····	37
3 方法·····	38
3.1 从新生大鼠肝脏中分离细胞·····	38
3.2 从成年大鼠肝脏中分离细胞·····	39
3.3 肝脏上皮细胞的克隆·····	40
3.4 培养·····	41
3.5 肝脏上皮细胞的保存·····	41
4 注意事项·····	42
参考文献·····	43
第7章 肺上皮细胞的培养 ·····	45
1 引言·····	45
1.1 背景·····	45

2 材料	48
2.1 II 型肺泡细胞的分离	48
2.2 II 型肺泡细胞的纯化	48
2.3 类 I 型肺泡细胞表型的培养	48
3 方法	49
3.1 II 型肺泡细胞的分离	49
3.2 II 型肺泡细胞的纯化	49
3.3 类 I 型肺泡细胞表型的培养	50
4 注意事项	50
参考文献	52
第 8 章 前列腺上皮细胞的分离和培养	53
1 引言	53
2 材料	54
3 方法	55
3.1 组织的获得	55
3.2 组织的准备和消化	55
3.3 培养板中类器官的培养	56
3.4 单细胞悬液的平板培养	57
4 注意事项	57
参考文献	58
第 9 章 牛乳腺内皮/上皮细胞血/奶屏障的培养模型	59
1 引言	59
2 材料	59
2.1 内皮细胞的分离和培养	59
2.2 上皮细胞的分离	60
2.3 细胞的冻存和解冻	61
2.4 上皮细胞培养	61
2.5 免疫组织化学	62
2.6 细胞培养模型的准备	62
3 方法	63
3.1 内皮细胞分离	63
3.2 上皮细胞分离	65
3.3 细胞的冻存和解冻	66
3.4 上皮细胞培养	67
3.5 免疫细胞化学	67
3.6 细胞培养模型的制备	68
4 注意事项	68
参考文献	70
第 10 章 血液-脑脊液屏障的培养——脉络上皮细胞原代培养和跨上皮转运模式	72
1 引言	72
2 材料	73
2.1 培养皿的包被	73

2.2 组织分离	73
2.3 细胞原代培养	73
2.4 二室跨上皮模型	74
2.5 免疫细胞化学研究	74
2.6 RT-PCR	75
3 方法	75
3.1 培养皿的包被	75
3.2 组织分离	76
3.3 原代细胞培养	77
3.4 双室跨上皮模型	79
3.5 免疫细胞化学研究	79
3.6 RT-PCR 分析	80
4 注意事项	82
参考文献	84
第 11 章 分化的人导气管上皮细胞原代培养模型	85
1 引言	85
1.1 导气管上皮	85
1.2 分化的人导气管上皮原代培养的形态	85
1.3 分化的导气管上皮原代培养的用途	87
1.4 人导气管上皮原代培养的发展	89
2 材料	90
3 方法	92
3.1 人导气管组织的收集和分离	92
3.2 分离和收集	92
3.3 底物的准备	93
3.4 在膜上接种细胞	94
3.5 常规培养与长期维持	95
3.6 导气管上皮的评价	96
4 注意事项	99
参考文献	100
第 12 章 小鼠角质细胞的原代培养	101
1 引言	101
2 材料	101
3 方法	102
3.1 准备胶原包被的培养皿	102
3.2 准备角质细胞培养	103
4 注意事项	104
参考文献	104
第 13 章 培养的上皮细胞的凋亡分析	106
1 引言	106
2 材料	107
2.1 通过检测 caspase 3 的激活和细胞核形分析确定贴壁细胞的凋亡	107

2.2	通过免疫组织化学计数脱落的凋亡细胞	107
2.3	通过检测 annexin V 分析细胞膜的极性	107
2.4	分离贴壁细胞的细胞质和线粒体	108
2.5	通过免疫组织化学检测 Bax 活性——向线粒体的转位	108
3	方法	108
3.1	通过检测 caspase 3 的激活和细胞核形分析确定贴壁细胞的凋亡	108
3.2	通过免疫组织化学计数脱落的凋亡细胞	110
3.3	通过检测 annexin V 分析细胞膜的极性	110
3.4	分离贴壁细胞的细胞质和线粒体	110
3.5	通过免疫组织化学检测 Bax 活性——向线粒体的转位	111
4	注意事项	111
	参考文献	113
第 14 章	上皮细胞的标志——角蛋白	114
1	引言	114
2	材料	116
3	方法	117
3.1	生长在盖玻片上的上皮细胞固定及渗透处理	117
3.2	细胞角蛋白免疫细胞化学染色	117
3.3	细胞角蛋白的免疫荧光染色	118
3.4	细胞多种角蛋白的同时免疫荧光染色	118
4	注意事项	118
	参考文献	120
第 15 章	上皮细胞的整联蛋白	122
1	引言	122
2	材料	122
3	方法	123
3.1	进行显微观察的细胞传代培养	123
3.2	检测非渗透细胞中整联蛋白的细胞准备	124
3.3	检测可渗透细胞中整联蛋白的细胞准备	124
3.4	与侧面整联蛋白的接触	125
3.5	整联蛋白表达的定量分析	125
3.6	激光共聚焦显微镜	126
3.7	流式细胞计数法	126
4	注意事项	127
	参考文献	128
第 16 章	人类正常表皮角质细胞在无血清培养系统中的分离、培养和分化	129
1	引言	129
2	材料	129
2.1	溶液	129
2.2	设备	130
3	方法	130
3.1	皮肤的准备	130

3.2 人表皮角质细胞的分离	130
3.3 人表皮角质细胞的传代	131
3.4 将具有高增殖潜能的正常人类表皮角质细胞分化为重建表皮	131
4 注意事项	131
参考文献	132
第 17 章 临床应用培养的自体上皮细胞治疗烧伤和皮肤表面毁损	134
1 引言	134
2 材料和方法	134
2.1 患者	134
2.2 人类表皮细胞培养	134
2.3 外科手术	134
2.4 组织学检查	135
3 结果	135
3.1 培养的上皮细胞	135
3.2 移植物的接受	136
3.3 手术结果	136
4 注意事项	140
参考文献	141
第 18 章 培养上皮细胞的移植	142
1 引言	142
2 材料	143
3 方法	143
3.1 培养上皮的准备	143
3.2 移植物的准备	145
3.3 冷冻与解冻技术	145
3.4 患者	145
3.5 培养上皮的移植	146
4 注意事项	147
参考文献	151
第 19 章 正常人类上皮的扩展培养体系——一个研究细胞迁移与增殖协同性的体外模型	153
1 引言	153
2 材料	154
2.1 正常人组织	154
2.2 工具和塑料器皿	154
2.3 培养液	154
3 方法	154
3.1 准备培养皿	154
3.2 准备样品	155
3.3 扩展培养	155
4 注意事项	155