

人真皮成纤维细胞分离试剂盒

Cat NO: IMP-HK007

产品描述

皮肤指身体表面包在肌肉外面的组织，是人体最大的器官，主要承担着保护身体、排汗、感觉冷热和压力等功能。皮肤由表皮、真皮和皮下组织构成。成纤维细胞属于由中胚层分化而来的间质细胞。由于这些细胞非常容易培养，已被广泛用于细胞和分子生物学研究。成纤维细胞能够分泌 I 型和 III 型胶原等细胞外基质，并且不同器官中的成纤维细胞有显著的不同。伤口修复时，真皮成纤维细胞由可增殖，可迁移的表型变为有收缩性的，可重塑基质的表型，同时，会分泌大量的透明质酸应对修复时的炎症反应。

适用范围

该试剂盒适用于人皮肤组织成纤维细胞提取试剂盒。

规格

本试剂盒规格为 10 次（以 1 块 1cm³ 为 1 次计）

运输和存储条件

2-8 °C 保存与运输，保质期为参考下表。所有组分开封后，有效期为 6-8 周，建议尽快使用。

配套培养基信息

表 1. 分离培养试剂盒组成信息

产品货号	产品名称	产品规格	储存条件
IMP-HK007A	人皮肤组织专用消化液 I	30 mL	2-8°C，避光保存，3 个月
IMP-HK007B	人皮肤组织专用消化液 II	30 mL	2-8°C，避光保存，3 个月
IMP-HK007C	组织处理缓冲液	500 mL	-20°C，避光保存，3 个月
IMP-HK00701	人皮肤成纤维细胞专用培养基	500 mL	2-8°C，避光保存，3 个月

分离步骤

实验前准备：人皮肤组织专用消化液 I、II、组织处理缓冲液、人皮肤成纤维细胞专用培养基；实验需自备手术器械、6cm/10cm 培养皿、离心管若干。

1. 在手术室中将组织置于预冷至 4℃、含 0.5%双抗的组织保存液中，保证组织完全浸没（获取要求组织宽度大于 3mm。）
2. 收到组织后用组织处理缓冲液反复冲洗组织块 10~15 遍直至组织块表面无肉眼可见的污物。
3. 再次用组织处理缓冲液冲洗处理后的组织块，并用眼科剪剪成约 5mm×5mm 的小块，完全浸入装有人皮肤组织专用消化液 I 的 15mL 离心管中，将 15 mL 离心管用锡纸包裹紧密以避光，置于 4℃冰箱中消化 14~20h。
4. 次日，将 15 mL 离心管取出，于超净台中打开，用组织处理缓冲液反复冲洗。撕下真皮层。（若无法私下，重新置于人皮肤组织专用消化液 I 中 1-2 小时，再次进行步骤 4 操作）
5. 将上皮层置于加入了人皮肤组织专用消化液 II 的培养皿中，用眼科剪轻柔地将上皮尽量剪碎，防止破坏培养皿底部导致污染。完全剪碎后，将培养皿盖好并用封口膜封住，置于细胞培养箱中消化 15 min，每隔 5 min 取出至超净台中反复吹打混匀。
6. 15 min 后，加入 1mL 胎牛血清终止消化，将细胞悬液转移至 15 mL 离心管中，250g 离心 5min，吸去上清。
7. 用人皮肤成纤维细胞专用培养基重悬，计数，按 $10^6/\text{mL}$ 密度转移至培养皿中，在 37℃、5%CO₂ 条件下培养。
8. 待细胞密度长至 80%-90%，进行消化传代培养建议 1：2-1：3 传代。（第一次消化时，进行少量难消化的细胞应舍去，避免细胞不纯）。

注：若想尽可能获得多的皮肤成纤维细胞，进行一下步骤。（以下步骤也可不进行操作）

步骤 4 中的真皮组织可贴壁培养，将真皮与表皮接触面贴于 6 孔板面，加极少量培养基，置于培养基培养，24 小时内禁止挪动，3-4 天后可能会有细胞爬出。

注意事项

1. 组织分离操作建议在冰上操作，组织处理缓冲液建议预冷处理。
2. 分离时应避免过度消化、过度重悬等操作导致细胞损伤。
3. 一个 6cm 培养皿可接种 1×10^6 个细胞。

4. 细胞专用消化液、培养基中含有微生物生长所需的营养成分，请在超净工作台内打开，按照需要量分装，并且用封口膜封住瓶口，即取即用，以避免污染。