

大鼠皮肤成纤维细胞分离试剂盒

Cat NO : IMP-RK012

产品描述

大鼠真皮成纤维细胞（Rat Dermal Fibroblasts）是从大鼠皮肤真皮层分离获得的一种间充质来源的贴壁细胞，在组织修复、细胞外基质（ECM）合成及伤口愈合中发挥核心作用。该细胞呈梭形或多角形，具有典型的成纤维细胞形态，可分泌 I 型、III型胶原蛋白、纤连蛋白及透明质酸等 ECM 成分，维持皮肤结构完整性和机械支持。在功能上，真皮成纤维细胞参与炎症调节、组织重塑及信号转导，其增殖与迁移能力对创伤修复至关重要。此外，该细胞还响应生长因子（如TGF- β 、PDGF）的刺激，调控肌成纤维细胞分化，影响瘢痕形成。因其易于体外培养且遗传背景明确，常被用于皮肤老化、纤维化疾病、药物毒性测试及再生医学研究

适用范围

该试剂盒适用于 Wistar、SD 等不同品系的大鼠皮肤成纤维细胞提取。

规格

本试剂盒规格为 5 次（以 1 只大鼠为 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。试剂开封后，有效期为 6-8 周。

配套培养基信息

表 1. 分离培养试剂盒组成信息

产品名称	产品规格	储存条件
大鼠皮肤成纤维细胞组织专用消化液 I	30 mL	-20 ° C, 避光保存, 3 个月
大鼠皮肤成纤维细胞组织专用消化液 II	10 mL	-20 ° C, 避光保存, 3 个月
大鼠皮肤成纤维细胞组织处理缓冲液	500ml	2-8 ° C, 避光保存, 3 个月
大鼠皮肤成纤维细胞专用培养基	500ml	2-8 ° C, 避光保存, 3 个月

分离步骤

实验前准备：大鼠皮肤成纤维细胞分离试剂盒（大鼠皮肤成纤维细胞组织专用消化液 I、II，大鼠皮肤成纤维细胞组织处理缓冲液、大鼠皮肤成纤维细胞专用培养基）；实验需自备手术器械、6 孔/6cm 培养皿、离心管若干。

一、大鼠皮肤成纤维细胞提取：下面以 1 只 Wistar 大鼠为例

D1:

1. 安乐处死新生 0~3D 大鼠，用剪刀剪去头部、四肢、尾巴。

2. 剥离整个皮肤：首先将锋利的剪刀插入尾部的孔中，然后沿着背部中线剪开身体皮肤到脖子上的开口，接下来，用一个镊子抓住暴露的身体，另一个镊子抓住皮肤，轻轻地将整个皮肤从身体上剥落，并在腿残端上连续移动。

3. 在 6cm² 培养皿中用组织处理缓冲液漂洗皮肤，重复漂洗3 次，将幼鼠的皮肤放入装有冰冷的 5mL 大鼠皮肤成纤维细胞专用消化液 I 的 15mL 离心管中，封口后将其置于 4℃ 冰箱中孵育过夜 14~18 小时。

注：专用消化液 I 用量取决于实验者取下的大鼠幼鼠皮肤大小，若皮肤较大，可以剪成两张分为两管进行消化，应尽可能让皮肤在专用消化液 I 中展开，避免折叠，以达到完全暴露

D2:

1.消化 14-18 小时后，将皮肤与专用消化液 I 一起转移到培养皿中。将皮肤转移到带有组织处理缓冲液的新培养皿，可洗去多余的专用消化液 I

2.用两把镊子，从组织处理缓冲液中抓住皮肤，提起皮肤，转移到新的培养皿中，表皮面朝下，真皮面朝上，小心地拉伸皮肤褶皱，使其完全伸展在培养皿上

3.将 0.5mL 专用消化液 II 放入新的培养皿中，使用镊子慢慢地向上提起真皮并远离表皮，同时按住表皮。

4.转移分离得到的真皮，使其漂浮在专用消化液 II 上，将真皮剪碎成 1cm² 大小的组织块，可再加入 1mL 消化液 II，37℃ 下消化 15min，每 5min 反复吹打混匀

5.在培养皿中加入 1.5mL 血清或是含有 10%血清的培养基，使用移液器轻轻上下移液几次，以吹散任何细胞团块

6.在 70uM 细胞筛中过滤，并用2mL 培养基冲洗培养皿，并过滤

7.离心：1000 rpm 离心 5 分钟

8.吸出上清液并将细胞沉淀轻轻重悬于 1 mL 专用培养基中

9.计数

10. 以 5×10^4 /cm² 的密度接种于培养皿中

注意事项

1.建议全程分离操作过程在冰上进行，可提高细胞活性。

2.剥离大鼠皮肤时，需将皮肤作为一个完整的一部分剥离，注意不要将皮肤分解成碎片，因为这会导致细胞在分散过程中丢失。

3.大鼠建议使用出生0~3 天的乳鼠，长毛的大鼠会增加污染的风险。

4.若想获得更多细胞，也可尝试将分离后的真皮贴壁等待细胞爬出。

5.大鼠皮肤成纤维细胞专用消化液、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，按照所需要量分装，并且用封口膜封住瓶口，即取即用，以避免污染。