

大鼠角质形成细胞分离试剂盒

Cat NO: IMP-RK013

产品描述

大鼠角质形成细胞（Rat Keratinocytes）是表皮的主要组成细胞，来源于外胚层，具有自我更新和分化能力，参与皮肤屏障的形成、创伤修复及免疫调节。这些细胞在体外培养时呈铺路石样形态，表达角蛋白（如 KRT5、KRT14 等）作为其标志性细胞骨架蛋白。常用于皮肤病理模型（如银屑病、皮炎）、药物渗透性测试、组织工程及辐射损伤研究。原代细胞需在低钙培养基中维持未分化状态，永生细胞系（如 Rat Epidermal Keratinocytes, REK）则便于长期实验。

适用范围

该试剂盒适用于 Wistar、SD 等不同品系的大鼠角质形成细胞提取。

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
大鼠角质形成细胞组织专用消化液 I	30 mL	-20°C, 避光保存, 3 个月
大鼠角质形成细胞组织专用消化液 II	10 mL	-20°C, 避光保存, 3 个月
鼠尾胶	15mL	2-8°C, 避光保存, 3 个月
大鼠角质形成细胞组织处理缓冲液	500ml	2-8°C, 避光保存, 3 个月
大鼠角质形成细胞专用培养基	500ml	2-8°C, 避光保存, 3 个月

分离步骤

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

一、大鼠角质形成细胞提取：下面以 1 只 SD 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 4~6mL 大鼠角质形成细胞专用消化液 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. 预包被培养皿：用适量鼠尾胶包被 6cm² 皿 30min，吸弃鼠尾胶，用 PBS 清洗培养皿 3 次，此时经包被的培养皿可直接使用
2. 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
3. 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
4. 将 1mL 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。
5. 转移分离得到的表皮，使其漂浮在专用消化液 II 上，确保表皮完全展开在消化液 II 中，室温下摇晃消化 20min
6. 在培养皿中加入冰冷的 3mL 大鼠角质形成细胞专用培养基，用镊子抓住表皮，用力来回摩擦表皮，从表皮片上释放出单个细胞，镜下观察是否有细胞爬出

7. 用 100 μ M 细胞筛过滤上述悬液至 50mL 离心管中，再用2mL 专用培养基重复摩擦两次表皮片，并将细胞悬液合并在同一管中
8. 离心：过滤后的细胞以 180 xg 离心 5 分钟
9. 吸出上清液并将细胞沉淀轻轻重悬于 1 mL 冷的专用培养基中
10. 计数
11. 以 5×10^4 /cm² 的密度接种预先包被鼠尾胶的培养皿中
12. 等到有细胞贴壁后更换新鲜培养基（一般 24 小时即贴壁），并每 1~2 天更换培养基，直到细胞达到所需实验前的汇合度

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. 大鼠角质形成细胞专用消化液、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。