

小鼠皮肤成纤维细胞分离试剂盒

Cat NO: IMP-MK009

产品描述

小鼠皮肤成纤维细胞（Mouse Dermal Fibroblasts, MDFs）是皮肤真皮层的主要间充质细胞，来源于胚胎中胚层，在维持皮肤结构、修复损伤及调控炎症反应中发挥核心作用。这些细胞具有高度可塑性，能够响应微环境信号（如生长因子、机械应力）改变表型，从静息状态转变为活化的肌成纤维细胞，参与伤口收缩和纤维化过程。原代细胞通常从新生小鼠真皮层分离，需注意避免角质形成细胞或内皮细胞污染。近年来，该类细胞在组织工程（如人工皮肤构建）和基因治疗（如 CRISPR 编辑矫正 ECM 缺陷）领域也展现出重要潜力。

适用范围

该试剂盒适用于 C57BL/6J、BALB/c 等不同品系的小鼠皮肤成纤维细胞提取。

规格

本试剂盒规格为 5 次（以 1 只小鼠为 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 |
|---------------------|-------|-------------------|
| 小鼠皮肤成纤维细胞组织专用消化液 I | 25 mL | -20°C, 避光保存, 3 个月 |
| 小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 |
| 小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 |
| 小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：小鼠皮肤成纤维细胞分离试剂盒（小鼠皮肤成纤维细胞组织专用消化液 I、II，小鼠皮肤成纤维细胞组织处理缓冲液、小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、小鼠皮肤成纤维细胞提取：下面以 1 只 C57BL/6J 小鼠为例

D1:

1. 安乐处死新生 0~3D 小鼠，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 3~5mL 小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小鼠幼鼠皮肤大小，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 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。
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，37℃ 下消化 15min，每 5min 反复吹打混匀
5. 在培养皿中加入 1mL 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，将细胞悬液转移至 15mL 离心管
6. 离心：1000 rpm 离心 5 分钟
7. 吸出上清液并将细胞沉淀轻轻重悬于 1 mL 专用培养基中
8. 计数

9. 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. 剥离小鼠皮肤时，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. 小鼠建议使用出生0~3天的乳鼠，长毛的小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. 小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。