

Lidské kožní fibroblasty – juvenilní | 300691**Obecné informace****Description**

Lidské dermální fibroblasty pocházející od mladistvých dárců představují primární mezenchymální buňky izolované z dermis mladých jedinců. Tyto buňky vykazují charakteristickou vřetenovitou morfolologii a silnou proliferační schopnost typickou pro fibroblasty, přičemž ve srovnání s buňkami pocházejícími od dospělých mají obecně vyšší rychlost růstu a delší replikační životnost. Mladistvé dermální fibroblasty aktivně syntetizují a remodelují složky extracelulární matrice, včetně kolagenu typu I a III, fibronektinu a proteoglykanů, což odráží jejich klíčovou roli ve vývoji kůže, udržování její struktury a hojení ran.

Juvenilní fibroblasty se často vyznačují nižšími hladinami markerů spojených se senescencí a sníženou základní expresí zánětlivých mediátorů, což je činí obzvláště vhodnými pro studie zaměřené na regeneraci tkání, fibrózu a vývojovou biologii. Jejich citlivost na mechanické a biochemické podněty z nich také činí cenný in vitro model pro zkoumání dermální remodelace a interakcí mezi buňkami a matricí.

Lidské juvenilní dermální fibroblasty jsou široce využívány v oblastech výzkumu, jako je hojení ran, regenerativní medicína a kosmetická věda. Díky svému vysokému proliferačnímu potenciálu a aktivní produkci extracelulární matrice slouží jako účinný model pro hodnocení biomateriálů, reakcí na léky a strategií proti stárnutí. Jako primární buňky si však zachovávají variabilitu závislou na dárci a mají omezenou životnost v kultuře, což vyžaduje pečlivé navržení experimentu a použití raných pasáží pro dosažení reprodukovatelných výsledků.

Organism Člověk**Tissue** Kůže**Charakteristika****Age** 1–17 let**Gender** Pohlaví nespecifikováno**Ethnicity** Nespecifikováno**Morphology** Bipolární, refraktilní a vřetenovité**Cell type** Kožní fibroblast**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** Fibroblasty z lidské kůže mladistvých (katalogové číslo Cytion 300691)

Lidské kožní fibroblasty – juvenilní | 300691

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulární data

Protein expression Pozitivní: CD73/CD90/CD105 Negativní: CD14/CD34/CD45/HLA-DR

Tumorigenic Ne

Viruses Negativní pro: HIV-1/2, HBV, HCV, HSV1/2, CMV, EBV, HHV6, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureoplasma parvum

Zpracování

Culture Medium CTIGM.Fibro: Růstové médium pro fibroblasty

Supplements Doplňte médium 10% FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilního L-glutaminu

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Subculturing Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsadte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte odpovídající objem roztoku trypsinu/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C, dokud se buňky neoddělí (5-10 minut). Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně buňky resuspendujte a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % CO_2 a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.

Seeding density 1 až 3*10³ buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Lidské kožní fibroblasty – juvenilní | 300691**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Lidské kožní fibroblasty – juvenilní | 300691

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.