

Inimese naha fibroblast – noor | 300691

Üldine teave

Description

Noortelt doonoritelt saadud inimese nahafibroblastid on noorte inimeste nahast eraldatud esmased mesenküümrakud. Need rakud omavad fibroblastidele iseloomulikku värtjaskujulist morfoloogiat ja tugevat proliferatsioonivõimet, millel on täiskasvanutelt saadud vastetega võrreldes üldiselt kõrgem kasvukiirus ja pikem replikatiivne eluiga. Noorte nahafibroblastid sünteesivad ja remodelleerivad aktiivselt ekstratsellulaarset matriksi komponente, sealhulgas I ja III tüüpi kollageeni, fibronektiini ja proteoglykaane, mis peegeldab nende olulist rolli naha arengus, struktuuri säilitamises ja haavade paranemises.

Noorukite fibroblaste iseloomustab sageli vananemisega seotud markerite madalam tase ja põletikuvahendajate vähendatud baasekspressioon, mis teeb need eriti sobivaks uuringuteks, mis keskenduvad kudede regenereerimisele, fibroosile ja arengubioloogiale. Nende reageerimisvõime mehaanilistele ja biokeemilistele signaalidele muudab need ka väärtuslikuks in vitro mudeliks naha ümberkujundamise ja raku-matriksi interaktsioonide uurimiseks.

Inimese noorukieas nahafibroblaste kasutatakse laialdaselt sellistes uurimisvaldkondades nagu haavade paranemine, regeneratiivmeditsiin ja kosmeetika. Tänu nende suurele proliferatsioonipotentsiaalile ja aktiivsele ekstratsellulaarse matriksi tootmisele on need efektiivne mudel biomaterjalide, ravimireaktsioonide ja vananemistavaste strateegiate hindamiseks. Kuid kui esmased rakud säilitavad nad doonorist sõltuvat variatiivsust ja neil on kultuuris piiratud eluiga, mis nõuab hoolikat eksperimendi kavandamist ja varajaste passaažide kasutamist, et saavutada korratavaid tulemusi.

Organism Inimene**Tissue** Nahk

Omadused

Age 1–17 aastat**Gender** Täpsustamata sugu**Ethnicity** Täpsustamata**Morphology** Bipolaarsed, refraktilsed ja värtjaskujulised**Cell type** Naha fibroblast**Growth properties** Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Inimese naha fibroblast – noor | 300691

Citation Noorte inimeste nahafibroblastid (Cytion katalooginumber 300691)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression Positiivne: CD73/CD90/CD105 Negatiivne: CD14/CD34/CD45/HLA-DR**Tumorigenic** Ei**Viruses** Negatiivne: HIV-1/2, HBV, HCV, HSV1/2, CMV, EBV, HHV6, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureoplasma parvum

Töötlemine

Culture Medium CTIGM.Fibro: fibroblastide kasvukeskkond**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabiilse L-glutamiiniga**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA**Subculturing** Rutiinseks adherentseks rakukultuuriks: Aspireerige adhereeruvatelt rakkudelt vana kultuurkeskkond ja peske neid PBS-ga, et eemaldada allesjäänud keskkond. Pärast PBS-i aspiratsiooni lisage sobiv kogus trüpsiini/EDTA lahust vastavalt kasvatusanuma suurusele (nt 1 ml T25 kolvi puhul, 3 ml T75 kolvi puhul) ja inkubeerige toatemperatuuril või 37 °C, kuni rakud eralduvad (5-10 minutit). Jälgige rakkude eraldumist mikroskoobi all ja koputage vajadusel õrnalt anumad, et rakud eralduksid. Kui rakud on eraldunud, lisage trüpsiini/EDTA inaktiveerimiseks täielikku söötmeainet, suspenseerige rakud ettevaatlikult uuesti ja kandke rakususpensiooni alikvoot uude, värsket söötmeainet sisaldavasse kasvatusanumasse. Asetage anum inkubaatorisse, mille temperatuur on 37 °C ja 5% CO₂, ning vahetage söötme iga 2-3 päeva tagant.**Seeding density** 1 kuni 3*10³ rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Inimese naha fibroblast – noor | 300691

Thawing and
Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation
Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing
Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping
Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Inimese naha fibroblast – noor | 300691

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.