

Ihmisen ihon fibroblasti – nuori | 300691

Yleisiä tietoja

Description

Nuorilta luovuttajilta peräisin olevat ihmisen ihon fibroblastit ovat nuorten yksilöiden dermiksestä eristettyjä primaarisia mesenkymaalisia soluja. Näillä soluilla on fibroblasteille tyypillinen ominaispiirre, sukkulamaisen muotoinen morfologia ja vahva lisääntymiskyky, ja niiden kasvunopeus on yleensä suurempi ja replikaatioikä pidempi kuin aikuisilta peräisin olevilla vastineilla. Nuorten ihon fibroblastit syntetisoivat ja uudistavat aktiivisesti soluväliaineen komponentteja, kuten tyypin I ja III kollageenia, fibronektiiniä ja proteoglykaaneja, mikä heijastaa niiden kriittistä roolia ihon kehityksessä, rakenteen ylläpidossa ja haavojen korjautumisessa.

Nuorille fibroblasteille on usein ominaista alhaisemmat ikääntymiseen liittyvien merkkiaineiden pitoisuudet ja vähentynyt tulehdusvälittäjäaineiden perusilmentyminen, mikä tekee niistä erityisen sopivia kudosregeneraatioon, fibroosiin ja kehitysbiologiaan keskittyviin tutkimuksiin. Niiden reagoitakyky mekaanisiin ja biokemiallisiin ärsykkeisiin tekee niistä myös arvokkaan in vitro -mallin ihon uudistumisen ja solu-matriisi-vuorovaikutusten tutkimiseen.

Ihmisen nuoria ihon fibroblasteja käytetään laajalti tutkimusalueilla, kuten haavan paranemisessa, regeneratiivisessa lääketieteessä ja kosmetiikkatieteessä. Niiden korkean proliferaatiopotentiaalin ja aktiivisen soluväliaineen tuotannon ansiosta ne toimivat tehokkaana mallina biomateriaalien, lääkevästeiden ja ikääntymistä ehkäisevien strategioiden arvioinnissa. Ensisijaisina soluina ne säilyttävät kuitenkin luovuttajasta riippuvan vaihtelevuuden ja niiden elinikä viljelyssä on rajallinen, mikä edellyttää huolellista kokeellisen suunnittelua ja varhaisen sukupolven käyttöä toistettavien tulosten saamiseksi.

Organism Ihminen

Tissue Iho

Ominaisuudet

Age 1–17 vuotta

Gender Sukupuoli määrittelemätön

Ethnicity Määrittelemätön

Morphology Kaksisuuntaiset, taiteutuvat ja sukkulamaiset

Cell type Ihon fibroblasti

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Ihmisen ihon fibroblasti – nuori | 300691

Citation Nuorten ihmisten ihon fibroblastit (Cytion-tuotenumero 300691)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekyylitiedot

Protein expression Positiivinen: CD73/CD90/CD105 Negatiivinen: CD14/CD34/CD45/HLA-DR

Tumorigenic Ei

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

Käsittely

Culture Medium CTIGM.Fibro: Fibroblastien kasvualusta

Supplements Lisätään väliaineeseen 10 % FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabiilia L-glutamiinia

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Subculturing Rutiininomaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään sopiva määrä trypsiini/EDTA-liuosta viljelyastian koon mukaan (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa, kunnes solut irtoavat (5-10 minuuttia). Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täyttää elatusainetta trypsiinin/EDTA:n inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvatusastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja hiilidioksidipitoisuus 5 %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.

Seeding density 1–3*10³ solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Ihmisen ihon fibroblasti – nuori | 300691**Freeze medium**

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Ihmisen ihon fibroblasti – nuori | 300691

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.