

Fibroblastes cutanés humains - juvéniles | 300691**Informations générales****Description**

Les fibroblastes dermiques humains issus de donneurs juvéniles sont des cellules mésenchymateuses primaires isolées du derme de jeunes individus. Ces cellules présentent la morphologie fusiforme caractéristique et la forte capacité de prolifération typiques des fibroblastes, avec des taux de croissance généralement plus élevés et une durée de vie répllicative plus longue que leurs homologues issus d'adultes. Les fibroblastes dermiques juvéniles synthétisent et remodelent activement les composants de la matrice extracellulaire, notamment le collagène de type I et III, la fibronectine et les protéoglycanes, ce qui reflète leur rôle essentiel dans le développement de la peau, le maintien de sa structure et la cicatrisation des plaies.

Les fibroblastes juvéniles se caractérisent souvent par des niveaux plus faibles de marqueurs associés à la sénescence et une expression de base réduite des médiateurs inflammatoires, ce qui les rend particulièrement adaptés aux études axées sur la régénération tissulaire, la fibrose et la biologie du développement. Leur réactivité aux signaux mécaniques et biochimiques en fait également un modèle in vitro précieux pour étudier le remodelage dermique et les interactions cellule-matrice.

Les fibroblastes dermiques juvéniles humains sont largement utilisés dans des domaines de recherche tels que la cicatrisation des plaies, la médecine régénérative et la science cosmétique. En raison de leur fort potentiel prolifératif et de leur production active de matrice extracellulaire, ils constituent un modèle efficace pour évaluer les biomatériaux, les réponses aux médicaments et les stratégies anti-vieillessement. Cependant, en tant que cellules primaires, ils présentent une variabilité dépendante du donneur et ont une durée de vie limitée en culture, ce qui nécessite une conception expérimentale rigoureuse et l'utilisation de passages précoces pour obtenir des résultats reproductibles.

Organism Humain**Tissue** Peau**Caractéristiques****Age** 1 à 17 ans**Gender** Sexe non spécifié**Ethnicity** Non spécifié**Morphology** Bipolaires, réfractiles et fusiformes**Cell type** Fibroblaste cutané**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires**

Fibroblastes cutanés humains - juvéniles | 300691**Citation** Fibroblastes dermiques humains juvéniles (référence Cytion 300691)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Données biomoléculaires****Protein expression** Positif : CD73/CD90/CD105 Négatif : CD14/CD34/CD45/HLA-DR**Tumorigenic** Non**Viruses** Négatif pour : VIH-1/2, VHB, VHC, HSV1/2, CMV, EBV, HHV6, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureoplasma parvum**Manipulation****Culture Medium** CTIGM.Fibro : Milieu de culture pour fibroblastes**Supplements** Compléter le milieu avec 10 % de FBS, 2 ng/mL de hr-bFGF, 2 mM de L-glutamine stable**Dissociation Reagent** Trypsine-EDTA

Subculturing Pour la culture de routine de cellules adhérentes : Aspirer l'ancien milieu de culture des cellules adhérentes et les laver avec du PBS pour éliminer tout milieu restant. Après avoir aspiré le PBS, ajouter le volume approprié de solution de Trypsine/EDTA en fonction de la taille du récipient de culture (par exemple, 1 ml pour un flacon T25, 3 ml pour un flacon T75) et incuber à température ambiante ou à 37°C jusqu'à ce que les cellules se détachent (5-10 minutes). Surveiller le détachement au microscope et tapoter doucement le récipient si nécessaire pour libérer les cellules. Une fois les cellules détachées, ajouter du milieu complet pour inactiver la trypsine/EDTA, remettre doucement les cellules en suspension et transférer une aliquote de la suspension cellulaire dans un nouveau récipient de culture contenant du milieu frais. Placer le récipient dans un incubateur réglé à 37°C avec 5% de CO_2 , et changer le milieu tous les 2-3 jours.

Seeding density 1 à 3×10^3 cellules/cm²**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

Fibroblastes cutanés humains - juvéniles | 300691

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Fibroblastes cutanés humains - juvéniles | 300691

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.