

Emberi bőrfibroblaszt – fiatal | 300691**Általános információk****Description**

A fiatal donoroktól származó emberi bőrfibroblasztok olyan elsődleges mezenchimális sejtek, amelyeket fiatal egyének bőréből izoláltak. Ezek a sejtek a fibroblasztokra jellemző, jellegzetes orsó alakú morfológiával és erős szaporodási képességgel rendelkeznek, és általában magasabb növekedési sebességgel és hosszabb replikációs élettartammal bírnak, mint a felnőttekből nyert társaik. A fiatal bőrfibroblasztok aktívan szintetizálják és átalakítják az extracelluláris mátrix komponenseit, beleértve az I. és III. típusú kollagént, a fibronektint és a proteoglikánokat, ami tükrözi kritikus szerepüket a bőr fejlődésében, szerkezeti fenntartásában és a sebgyógyulásban.

A fiatal fibroblasztokat gyakran alacsonyabb szintű öregedéssel kapcsolatos markerek és csökkent alapvonalú gyulladásos mediátorok expressziója jellemzi, ami különösen alkalmassá teszi őket a szövetregenerációra, a fibrózisra és a fejlődésbiológiára összpontosító tanulmányokhoz. Mechanikai és biokémiai ingerekre való reagálóképességük miatt értékes in vitro modellként szolgálnak a bőr átalakításának és a sejt–mátrix kölcsönhatásoknak a vizsgálatához.

Az emberi fiatal bőrfibroblasztokat széles körben használják olyan kutatási területeken, mint a sebgyógyulás, a regeneratív orvoslás és a kozmetikai tudomány. Magas proliferációs potenciáljuk és aktív extracelluláris mátrixtermelésük miatt hatékony modellként szolgálnak a biológiai anyagok, a gyógyszerreakciók és az öregedésgátló stratégiák értékeléséhez. Ugyanakkor, mint elsődleges sejtek, megtartják a donortól függő variabilitást, és tenyésztésben véges élettartammal rendelkeznek, ami gondos kísérleti tervezést és korai passzázs használatát teszi szükségessé a reprodukálható eredmények érdekében.

Organism Emberi**Tissue** Bőr**Jellemzők****Age** 1–17 éves korig**Gender** Meghatározatlan nemű**Ethnicity** Meghatározatlan**Morphology** Kétpólusú, töréses és orsó alakú**Cell type** Bőrfibroblaszt**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok**

Emberi bőrfibroblaszt – fiatal | 300691

Citation Fiatal emberi bőrfibroblasztok (Cytion katalógusszám: 300691)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium CTIGM.Fibro: Fibroblasztok tenyésztő táptalaja**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 2 ng/mL hr-bFGF-fel, 2 mM stabil L-glutaminnal**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA**Subculturing** Rutinszerű adherens sejtkultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombikhoz, 3 ml T75 lombikhoz), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on, amíg a sejtek leválnak (5-10 perc). Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. A leválás után adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtszuszpenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5% CO₂-ra beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.**Seeding density** 1–3*10³ sejt/cm²**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

Emberi bőrfibroblaszt – fiatal | 300691**Freeze medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítjük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtsuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Emberi bőrfibroblaszt – fiatal | 300691

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.