

Žmogaus odos fibroblastai – jauni | 300691**Bendra informacija****Description**

Žmogaus odos fibroblastai, gauti iš paauglių donorų, yra pirminės mezenchiminės ląstelės, izoliuotos iš jaunų asmenų odos. Šios ląstelės pasižymi būdinga verpstės formos morfologija ir stipriu proliferacijos pajėgumu, būdingu fibroblastams, o jų augimo tempai paprastai yra didesni ir replikacijos trukmė ilgesnė, palyginti su ląstelėmis, gautomis iš suaugusiųjų. Jaunų žmonių odos fibroblastai aktyviai sintezuoja ir pertvarko ekstraląstelinis matrikso komponentus, įskaitant I ir III tipo kolageną, fibronektiną ir proteoglikanus, o tai atspindi jų svarbų vaidmenį odos vystymuisi, struktūros palaikymui ir žaizdų gijimui.

Jaunatviškiems fibroblastams dažnai būdingas mažesnis su senėjimu susijusių žymenų kiekis ir sumažėjusi uždegimo mediatorių bazinė ekspresija, todėl jie ypač tinka tyrimams, skirtiems audinių regeneracijai, fibrozės ir vystymosi biologijai. Jų jautrumas mechaniniams ir biocheminiams signalams taip pat daro juos vertingu in vitro modeliu odos pertvarkymo ir ląstelių bei matricos sąveikos tyrimams.

Žmogaus jaunatviški odos fibroblastai plačiai naudojami tokiose mokslinių tyrimų srityse kaip žaizdų gijimas, regeneracinė medicina ir kosmetologija. Dėl didelio proliferacijos potencialo ir aktyvios ekstraląstelinės matricos gamybos jie yra veiksmingas modelis biomedžiagų, reakcijų į vaistus ir senėjimo prevencijos strategijų vertinimui. Tačiau, kaip pirminės ląstelės, jos išlaiko nuo donoro priklausomą variabilumą ir turi ribotą gyvavimo trukmę kultūroje, todėl norint gauti pakartojamus rezultatus būtina kruopščiai planuoti eksperimentą ir naudoti ankstyvasias pasėlių kartas.

Organism Žmogus**Tissue** Odos**Charakteristikos****Age** 1–17 metų**Gender** Lytis nenurodyta**Ethnicity** Nenustatyta**Morphology** Dvipoliai, refrakciniai ir verpstės formos**Cell type** Odos fibroblastai**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys****Citation** Jaunų žmonių odos fibroblastai (Cytion katalogo numeris 300691)

Žmogaus odos fibroblastai – jauni | 300691

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression Teigiamas: CD73/CD90/CD105 Neigiamas: CD14/CD34/CD45/HLA-DR

Tumorigenic Ne

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

Tvarkymas

Culture Medium CTIGM.Fibro: auginimo terpė fibroblastams

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilaus L-glutamino

Dissociation Reagent Trypsino ir EDTA

Subculturing Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį tripsino ir EDTA tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje, kol ląstelės atsiskirs (5-10 min.). Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuotas tripsinas/EDTA, atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkelkite alikvotą ląstelių suspensijos į naują auginimo indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į inkubatorių, kuriame nustatyta 37 °C temperatūra ir 5 % CO_2 , o terpę keiskite kas 2-3 dienas.

Seeding density 1–3*10³ ląstelės/cm²

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Žmogaus odos fibroblastai – jauni | 300691**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Žmogaus odos fibroblastai – jauni | 300691

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.