

Cilvēka ādas fibroblasts – jauniešu | 300691

Vispārīga informācija

Description

No jauniešu donoriem iegūtie cilvēka ādas fibroblasti ir primārās mezenhālās šūnas, kas izdalītas no jaunu cilvēku ādas. Šīs šūnas izceļas ar fibroblastiem raksturīgo vārpstveida morfoloģiju un spēcīgu proliferācijas spēju, un tām parasti ir augstāks augšanas ātrums un garāks replikācijas dzīves ilgums salīdzinājumā ar šūnām, kas iegūtas no pieaugušajiem. Jauniešu ādas fibroblasti aktīvi sintēzē un pārveido ekstracelulārās matricas komponentus, tostarp I un III tipa kolagēnu, fibronektīnu un proteoglikānus, atspoguļojot to izšķirošo lomu ādas attīstībā, struktūras uzturēšanā un brūču sadzīšanā.

Jauniešu fibroblastiem bieži raksturīgs zemāks ar novecošanu saistīto marķieru līmenis un samazināta iekaisuma mediatoru bāzes ekspresija, kas padara tos īpaši piemērotus pētījumiem, kas vērsti uz audu reģenerāciju, fibrozi un attīstības bioloģiju. To reaģētspēja uz mehāniskiem un bioķīmiskiem signāliem padara tos par vērtīgu in vitro modeli ādas pārveidošanās un šūnu–matricas mijiedarbības izpētei.

Cilvēka jauniešu ādas fibroblastus plaši izmanto pētniecības jomās, tostarp brūču sadzīšanā, reģeneratīvajā medicīnā un kosmētikas zinātnē. Pateicoties to augstajam proliferatīvajam potenciālam un aktīvai ekstracelulārās matricas ražošanai, tie kalpo kā efektīvs modelis biomateriālu, zāļu reakciju un pretnovecošanās stratēģiju novērtēšanai. Tomēr, tā kā tās ir primārās šūnas, tām saglabājas no donora atkarīga variabilitāte un tām ir ierobežots dzīves ilgums kultūrā, kas prasa rūpīgu eksperimenta plānošanu un agrīnu pasāžu izmantošanu, lai iegūtu reproducējamus rezultātus.

Organism Cilvēks**Tissue** Āda

Raksturojums

Age 1–17 gadi**Gender** Dzimums nav precizēts**Ethnicity** Nav norādīts**Morphology** Bipolārs, refraktīls un vārpstas formas**Cell type** Ādas fibroblasts**Growth properties** Adherent

Normatīvie dati

Citation Jauniešu cilvēka ādas fibroblasti (Cytion kataloga numurs 300691)

Cilvēka ādas fibroblasts – jauniešu | 300691

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium CTIGM.Fibro: fibroblastu augšanas barotne**Supplements** Papildiniet barotni ar 10% FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilā L-glutamīna**Dissociation Reagent** Tripsīns-EDTA**Subculturing** Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūkņēšanas pievienojiet atbilstošu tripsīna/EDTA šķīduma tilpumu atkarībā no kultūras trauka lieluma (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai) un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C, līdz šūnas atdalās (5-10 minūtes). Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievienot pilnu barotni, lai inaktivētu tripsīnu/EDTA, uzmanīgi resuspendēt šūnas un šūnu suspensijas alikvotu pārvietot jaunā barotnē ar svaigu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5 % CO₂, un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.**Seeding density** 1 līdz 3*10³ šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Cilvēka ādas fibroblasts – jauniešu | 300691

Thawing and
Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation
Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing
Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Cilvēka ādas fibroblasts – jauniešu | 300691

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.