

**Humane dermale fibroblaster – juvenile | 300691****Generell informasjon****Description**

Humane dermale fibroblaster fra unge donorer er primære mesenkymale celler isolert fra dermis hos unge individer. Disse cellene har den karakteristiske spindelformede morfologien og den sterke proliferasjonsevnen som er typisk for fibroblaster, med generelt høyere veksthastigheter og lengre replikativ levetid sammenlignet med fibroblaster fra voksne. Unge dermale fibroblaster syntetiserer og omformer aktivt ekstracellulære matrikskomponenter, inkludert type I- og III-kollagen, fibronektin og proteoglykaner, noe som gjenspeiler deres avgjørende rolle i hudutvikling, strukturell vedlikehold og sårreparasjon.

Juvenile fibroblaster er ofte preget av lavere nivåer av senescensassosierte markører og redusert baseline-ekspresjon av inflammatoriske mediatorer, noe som gjør dem spesielt egnet for studier med fokus på vevsregenerering, fibrose og utviklingsbiologi. Deres respons på mekaniske og biokjemiske signaler gjør dem også til en verdifull in vitro-modell for å undersøke dermal ombygging og celle-matriks-interaksjoner.

Humane juvenile dermale fibroblaster er mye brukt innen forskningsområder som sårheling, regenerativ medisin og kosmetisk vitenskap. På grunn av deres høye proliferative potensial og aktive produksjon av ekstracellulær matriks fungerer de som en effektiv modell for evaluering av biomaterialer, legemiddelresponser og anti-aldningsstrategier. Som primære celler beholder de imidlertid donoravhengig variabilitet og har en begrenset levetid i kultur, noe som krever nøye eksperimentell utforming og bruk av tidlige passasjer for å oppnå reproducerbare resultater.

**Organism** Menneskelig**Tissue** Hud**Kjennetegn****Age** 1–17 år**Gender** Kjønn uspesifisert**Ethnicity** Uspesifisert**Morphology** Bipolær, refraktil og spindelformet**Cell type** Hudfibroblast**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** Fibroblaster fra ungdommelig menneskehud (Cytion-katalognummer 300691)

**Humane dermale fibroblaster – juvenile | 300691****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**Biomolekylære data****Protein expression** Positiv: CD73/CD90/CD105 Negativ: CD14/CD34/CD45/HLA-DR**Tumorigenic** Nei**Viruses** Negativ for: HIV-1/2, HBV, HCV, HSV1/2, CMV, EBV, HHV6, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureoplasma parvum**Håndtering****Culture Medium** CTIGM.Fibro: Vekstmedium for fibroblaster**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilt L-glutamin**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA

**Subculturing** For rutinemessig adherent cellekultur: Aspirer det gamle dyrkningsmediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS for å fjerne eventuelt gjenværende medium. Etter at PBS er aspirert, tilsett et passende volum Trypsin/EDTA-løsning basert på størrelsen på dyrkingskaret (f.eks. 1 ml for en T25-kolbe, 3 ml for en T75-kolbe), og inkuber ved romtemperatur eller 37 °C til cellene løsner (5-10 minutter). Overvåk løsrivelsen under mikroskop, og bank forsiktig på beholderen om nødvendig for å frigjøre cellene. Når cellene har løsnet, tilsett komplett medium for å inaktivere trypsin/EDTA, resuspender cellene forsiktig, og overfør en aliquot av celleduspensjonen til et nytt dyrkingskar som inneholder nytt medium. Plasser karet i en inkubator innstilt på 37 °C med 5 % CO<sub>2</sub>, og bytt medium hver 2.-3. dag.

**Seeding density** 1 til 3\*10<sup>3</sup> celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

### Humane dermale fibroblaster – juvenile | 300691

#### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør celleduspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

#### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

#### Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

#### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

#### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## Humane dermale fibroblaster – juvenile | 300691

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll og molekylær analyse

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.