

Ludzkie fibroblasty skóry – młodzińcze | 300691**Informacje ogólne****Description**

Ludzkie fibroblasty skórne pochodzące od młodych dawców to pierwotne komórki mezenchymalne izolowane ze skóry właściwej młodych osób. Komórki te charakteryzują się typową dla fibroblastów wrzecionowatą morfologią i silną zdolnością do proliferacji, a także ogólnie wyższymi wskaźnikami wzrostu i dłuższą żywotnością replikacyjną w porównaniu z komórkami pochodzącymi od dorosłych. Młode fibroblasty skóry aktywnie syntetyzują i przebudowują składniki macierzy zewnątrzkomórkowej, w tym kolagen typu I i III, fibronektynę i proteoglikany, co odzwierciedla ich kluczową rolę w rozwoju skóry, utrzymaniu jej struktury i gojeniu ran.

Młode fibroblasty często charakteryzują się niższym poziomem markerów związanych ze starzeniem się oraz zmniejszoną podstawową ekspresją mediatorów zapalenia, co sprawia, że są one szczególnie odpowiednie do badań skupiających się na regeneracji tkanek, zwłóknieniu i biologii rozwojowej. Ich reaktywność na sygnały mechaniczne i biochemiczne sprawia również, że są one cennym modelem in vitro do badania przebudowy skóry i interakcji komórka–macierz.

Młode ludzkie fibroblasty skóry są szeroko stosowane w takich obszarach badań, jak gojenie ran, medycyna regeneracyjna i kosmetyka. Ze względu na swój wysoki potencjał proliferacyjny i aktywną produkcję macierzy zewnątrzkomórkowej służą one jako skuteczny model do oceny biomateriałów, reakcji na leki i strategii przeciwstarzeniowych. Jednak jako komórki pierwotne zachowują one zmienność zależną od dawcy i mają ograniczoną żywotność w hodowli, co wymaga starannego zaprojektowania eksperymentu i wykorzystania wczesnych pasażów w celu uzyskania powtarzalnych wyników.

Organism Człowiek**Tissue** Skóra**Charakterystyka****Age** 1–17 lat**Gender** Płeć nieokreślona**Ethnicity** Nieokreślony**Morphology** Dwubiegunowe, refrakcyjne i wrzecionowate**Cell type** Fibroblast skóry**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Ludzkie fibroblasty skóry – młodzińcze | 300691**Citation** Młode ludzkie fibroblasty skóry (numer katalogowy Cytion 300691)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Dane biomolekularne****Protein expression** Pozytywne: CD73/CD90/CD105 Negatywne: CD14/CD34/CD45/HLA-DR**Tumorigenic** Nie**Viruses** Ujemny dla: HIV-1/2, HBV, HCV, HSV1/2, CMV, EBV, HHV6, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureoplasma parvum**Obsługa****Culture Medium** CTIGM.Fibro: Pożywka do hodowli fibroblastów**Supplements** Uzupelnic pożywkę 10% FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilnej L-glutaminy**Dissociation Reagent** Trypsyna-EDTA

Subculturing W przypadku rutynowej hodowli komórek przylegających: Odessać starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS w celu usunięcia pozostałości pożywki. Po odessaniu PBS, dodać odpowiednią objętość roztworu Trypsyna/EDTA w zależności od wielkości naczynia hodowlanego (np. 1 ml dla kolby T25, 3 ml dla kolby T75) i inkubować w temperaturze pokojowej lub 37°C do momentu odłączenia się komórek (5-10 minut). Monitoruj oderwanie pod mikroskopem i delikatnie postukaj w naczynie, jeśli to konieczne, aby uwolnić komórki. Po odłączeniu dodać pełną pożywkę w celu inaktywacji trypsyny/EDTA, delikatnie ponownie zawiesić komórki i przenieść porcję zawiesiny komórek do nowego naczynia hodowlanego zawierającego świeżą pożywkę. Umieścić naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5%_{CO2} i zmieniać pożywkę co 2-3 dni.

Seeding density 1 do 3*10³ komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Ludzkie fibroblasty skóry – młodzińcze | 300691**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Ludzkie fibroblasty skóry – młodzińcze | 300691

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.