

Mänskliga dermala fibroblaster – ungdomsstadiet | 30069**1****Allmän information****Description**

Hudfibroblaster från unga donatorer är primära mesenkymala celler som isolerats från dermis hos unga individer. Dessa celler uppvisar den karakteristiska spindelformade morfologin och den starka förökningsförmågan som är typisk för fibroblaster, med generellt högre tillväxthastigheter och längre replikativ livslängd jämfört med motsvarande celler från vuxna. Juvenila dermala fibroblaster syntetiserar och omformar aktivt komponenter i den extracellulära matrisen, inklusive kollagen typ I och III, fibronektin och proteoglykaner, vilket återspeglar deras avgörande roll i hudens utveckling, strukturella underhåll och sårhäkning.

Juvenila fibroblaster kännetecknas ofta av lägre nivåer av åldersrelaterade markörer och minskad baslinjeuttryck av inflammatoriska mediatorer, vilket gör dem särskilt lämpliga för studier inriktade på vävnadsregenerering, fibros och utvecklingsbiologi. Deras respons på mekaniska och biokemiska signaler gör dem också till en värdefull in vitro-modell för att undersöka ombyggnad av dermis och interaktioner mellan celler och matris.

Juvenila dermala fibroblaster från människa används i stor utsträckning inom forskningsområden som sårhäkning, regenerativ medicin och kosmetisk vetenskap. Tack vare sin höga proliferativa potential och aktiva produktion av extracellulär matris fungerar de som en effektiv modell för utvärdering av biomaterial, läkemedelsrespons och anti-aging-strategier. Som primära celler behåller de dock donatorberoende variation och har en begränsad livslängd i odling, vilket kräver noggrann experimentell design och användning av tidiga passager för reproducerbara resultat.

Organism Människan**Tissue** Hud**Egenskaper****Age** 1–17 år**Gender** Kön ospecificerat**Ethnicity** Ospecificerad**Morphology** Bipolär, refraktil och spindelformad**Cell type** Hudfibroblast**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter**

Mänskliga dermala fibroblaster – ungdomsstadiet | 30069**1****Citation** Fibroblaster från ung mänsklig hud (Cytion-katalognummer 300691)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekylära data****Protein expression** Positiv: CD73/CD90/CD105 Negativ: CD14/CD34/CD45/HLA-DR**Tumorigenic** Nej**Viruses** Negativt för: HIV-1/2, HBV, HCV, HSV1/2, CMV, EBV, HHV6, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureoplasma parvum**Hantering****Culture Medium** CTIGM.Fibro: Odlingsmedium för fibroblaster**Supplements** Komplettera med 10% FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilt L-glutamin**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA**Subculturing** För rutinmässig adherent cellkultur: Aspirera det gamla odlingsmediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS för att avlägsna eventuellt kvarvarande medium. Efter aspirering av PBS, tillsätt lämplig volym Trypsin/EDTA-lösning baserat på odlingskärllets storlek (t.ex. 1 ml för en T25-kolv, 3 ml för en T75-kolv) och inkubera vid rumstemperatur eller 37°C tills cellerna lossnar (5-10 minuter). Övervaka avskiljningen under mikroskop och knacka försiktigt på kärlet om det behövs för att frigöra cellerna. När cellerna har lossnat, tillsätt komplett medium för att inaktivera trypsin/EDTA, resuspendera cellerna försiktigt och överför en alikvot av cellsuspensionen till ett nytt odlingskärl med färskt medium. Placera kärlet i en inkubator inställd på 37°C med 5% CO₂ och byt medium var 2-3:e dag.**Seeding density** 1 till 3*10³ celler/cm²**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka

Mänskliga dermala fibroblaster – ungdomsstadiet | 30069

1

Freeze medium

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Mänskliga dermala fibroblaster – ungdomsstadiet | 30069

1

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.