

Ľudský dermálny fibroblast – juvenilný | 300691**Všeobecné informácie****Description**

Ľudské dermálne fibroblasty pochádzajúce od mladistvých darcov predstavujú primárne mezenchýmové bunky izolované z dermis mladých jedincov. Tieto bunky vykazujú charakteristickú vretenovitú morfológiu a silnú proliferatívnu schopnosť typickú pre fibroblasty, pričom v porovnaní s ich dospelými náprotivkami majú vo všeobecnosti vyššiu rýchlosť rastu a dlhšiu replikačnú životnosť. Mladé dermálne fibroblasty aktívne syntetizujú a remodelujú zložky extracelulárnej matice, vrátane kolagénu typu I a III, fibronektínu a proteoglykánov, čo odzrkadľuje ich kľúčovú úlohu vo vývoji kože, udržiavaní jej štruktúry a hojení rán.

Juvenilné fibroblasty sa často vyznačujú nižšími hladinami markerov spojených so senescenciou a zníženou základnou expresiou zápalových mediátorov, čo ich robí obzvlášť vhodnými pre štúdie zamerané na regeneráciu tkanív, fibrózu a vývojovú biológiu. Ich citlivosť na mechanické a biochemické podnety z nich tiež robí cenný in vitro model na skúmanie dermálnej prestavby a interakcií medzi bunkami a matricou.

Ľudské juvenilné dermálne fibroblasty sa široko používajú vo výskumných oblastiach, ako je hojenie rán, regeneratívna medicína a kozmetická veda. Vďaka svojmu vysokému proliferačnému potenciálu a aktívnej produkcii extracelulárnej matice slúžia ako účinný model na hodnotenie biomateriálov, reakcií na lieky a stratégií proti starnutiu. Ako primárne bunky si však zachovávajú variabilitu závislú od darcu a majú obmedzenú životnosť v kultúre, čo si vyžaduje starostlivé navrhnutie experimentu a použitie raných pasáží pre reprodukovateľné výsledky.

Organism Ľudské**Tissue** Koža**Charakteristika****Age** 1–17 rokov**Gender** Pohlavie nešpecifikované**Ethnicity** Nešpecifikované**Morphology** Bipolárne, refraktilné a vretenovité**Cell type** Kožný fibroblast**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** Dermálne fibroblasty z ľudských tkanív mladých jedincov (katalógové číslo Cytion 300691)

Ľudský dermálny fibroblast – juvenilný | 300691

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulárne údaje

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

Spracovanie

Culture Medium CTIGM.Fibro: Rastové médium pre fibroblasty**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilného L-glutamínu**Dissociation Reagent** Trypsín-EDTA**Subculturing** Na bežné adherentné bunkové kultúry: Odstráňte staré kultivačné médium z adherentných buniek a premyte ich PBS, aby ste odstránili zvyšné médium. Po odsatí PBS pridajte príslušný objem roztoku trypsínu/EDTA podľa veľkosti kultivačnej nádoby (napr. 1 ml pre banku T25, 3 ml pre banku T75) a inkubujte pri izbovej teplote alebo 37 °C, kým sa bunky neoddelia (5 - 10 minút). Oddelovanie sledujte pod mikroskopom a v prípade potreby jemne poklepte na nádobu, aby sa bunky uvoľnili. Po oddelení pridajte kompletne médium na inaktiváciu trypsínu/EDTA, jemne resuspendujte bunky a alikvotnú časť bunkovej suspenzie preneste do novej kultivačnej nádoby obsahujúcej čerstvé médium. Nádobu umiestnite do inkubátora nastaveného na 37 °C s 5 % CO₂ a médium vymieňajte každé 2 - 3 dni.**Seeding density** 1 až 3*10³ buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Ludský dermálny fibroblast – juvenilný | 300691**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Ludský dermálny fibroblast – juvenilný | 300691

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.