

Človeški dermalni fibroblast – mladostni | 300691**Splošne informacije****Description**

Človeški dermalni fibroblasti, pridobljeni od mladih darovalcev, so primarne mezenhimalne celice, izolirane iz dermisa mladih posameznikov. Te celice imajo značilno vretenasto obliko in močno sposobnost razmnoževanja, ki je tipična za fibroblaste, pri čemer imajo na splošno višje stopnje rasti in daljšo replikativno življenjsko dobo v primerjavi s tistimi, pridobljenimi od odraslih. Mladostni dermalni fibroblasti aktivno sintetizirajo in preoblikujejo komponente ekstracelularne matrice, vključno s kolagenom tipa I in III, fibronektinom in proteoglikani, kar odraža njihovo ključno vlogo pri razvoju kože, ohranjanju strukture in celjenju ran.

Mladostni fibroblasti so pogosto značilni po nižjih ravneh markerjev, povezanih s staranjem, in zmanjšani osnovni ekspresiji vnetnih mediatorjev, zaradi česar so še posebej primerni za študije, osredotočene na regeneracijo tkiva, fibrozo in razvojno biologijo. Njihova odzivnost na mehanske in biokemične dražljaje jih prav tako naredi za dragocen in vitro model za preučevanje preoblikovanja dermisa in interakcij med celicami in matriksom.

Človeški juvenilni dermalni fibroblasti se široko uporabljajo na raziskovalnih področjih, vključno z celjenjem ran, regenerativno medicino in kozmetično znanostjo. Zaradi svojega visokega proliferativnega potenciala in aktivne proizvodnje ekstracelularne matrice služijo kot učinkovit model za ocenjevanje biomaterialov, odzivov na zdravlila in strategij proti staranju. Vendar pa kot primarne celice ohranjajo od dajalca odvisno spremenljivost in imajo omejeno življenjsko dobo v kulturi, kar zahteva skrbno načrtovanje poskusov in uporabo zgodnjih pasaz za ponovljive rezultate.

Organism Človek**Tissue** Koža**Značilnosti****Age** 1–17 let**Gender** Spol neopredeljen**Ethnicity** Neopredeljeno**Morphology** Bipolarni, refraktilni in vretenasti**Cell type** Kožni fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki**

Človeški dermalni fibroblast – mladostni | 300691

Citation	Mladostni človeški dermalni fibroblasti (katalogska številka Cytion 300691)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

Biomolekularni podatki

Protein expression	Pozitivno: CD73/CD90/CD105 Negativno: CD14/CD34/CD45/HLA-DR
---------------------------	---

Tumorigenic	Ne
--------------------	----

Viruses	Negativno za: HIV-1/2, HBV, HCV, HSV1/2, CMV, EBV, HHV6, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureoplasma parvum
----------------	--

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	CTIGM.Fibro: gojišče za fibroblaste
-----------------------	-------------------------------------

Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilnega L-glutamina
--------------------	--

Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA
-----------------------------	--------------

Subculturing	Za rutinsko gojenje adherentnih celic: Iz adherentnih celic odsesajte staro gojišče in jih sperite s PBS, da odstranite preostalo gojišče. Po odsesanju PBS dodajte ustrezno količino raztopine tripsina/EDTA glede na velikost posode za gojenje (npr. 1 ml za bučko T25, 3 ml za bučko T75) in inkubirajte pri sobni temperaturi ali 37 °C, dokler se celice ne ločijo (5-10 minut). Odlepitev spremljajte pod mikroskopom in po potrebi nežno potrkajte posodo, da se celice sprostijo. Ko se celice odcepijo, dodajte popolno gojišče za inaktivacijo tripsina/EDTA, nežno ponovno suspendirajte celice in prenesite alikvot celične suspenzije v novo posodo za gojenje s svežim gojiščem. Posodo postavite v inkubator, nastavljen na 37 °C s 5 % CO ₂ , in gojišče zamenjajte vsake 2 do 3 dni.
---------------------	---

Seeding density	1 do 3*10 ³ celic/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
----------------------	----------------------

Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.
----------------------	---

Človeški dermalni fibroblast – mladostni | 300691

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upošteвайте uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Človeški dermalni fibroblast – mladostni | 300691

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.