

Fibroblastové buňky lidské předkožky (HFFC) | 300715**Obecné informace****Description**

Lidské fibroblastové buňky předkožky (HFFC) jsou odvozeny z fibroblastické tkáně mladistvé předkožky. Tyto buňky jsou nezbytným nástrojem ve studiu lidské biologie, zejména ve výzkumu souvisejícím s hojením ran, biologií kůže a buněčným stárnutím. Fibroblasty hrají klíčovou roli v syntéze extracelulární matrice a kolagenu, které jsou zásadními složkami pojivové tkáně. HFFC se často využívají v experimentech zkoumajících mechanismy vývoje kůže, remodelace dermis a buněčné reakce na různé růstové faktory a cytokiny.

HFFC se vyznačují vřetenovitým tvarem a schopností rychle se množit in vitro, což je předurčuje pro různé experimentální aplikace, včetně tkáňového inženýrství, regenerativní medicíny a screeningu léčiv. Tyto buňky jsou také cenné ve studiích zkoumajících účinky UV záření na kožní buňky, patofyziologii fibrotických onemocnění a proces stárnutí kůže. Vzhledem k jejich novorozeneckému původu je u HFFC méně pravděpodobné, že se v nich nahromadily mutace ve srovnání s dospělými fibroblasty, což z nich činí ideální model pro studium primárních buněčných funkcí.

Organism Člověk**Tissue** Předkožka**Charakteristika****Morphology** Fibroblasty**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** Lidské fibroblastové buňky předkožky (HFFC) (katalogové číslo Cytion 300715)**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS, 10 ng/ml bFGF, 10 mikrogramů/l inzulinu

Fibroblastové buňky lidské předkožky (HFFC) | 300715**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme 90 % FBS + 10 % DMSO pro udržení životaschopnosti nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryokonzervačním procesem.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazícího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Fibroblastové buňky lidské předkožky (HFFC) | 300715

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.