

Lidský kožní fibroblast - dospělý (HDF-Ad) | 300606**Obecné informace****Description**

Lidské kožní fibroblasty, dospělé (HDF-Ad), jsou primární buňky izolované z vrstvy dermis dospělé lidské kůže. Tyto buňky hrají klíčovou roli ve fyziologii kůže, protože jsou zodpovědné za produkci složek extracelulární matrix, včetně kolagenu a elastinu, které jsou nezbytné pro udržení struktury a funkce kůže. Buňky HDF-Ad jsou často využívány ve výzkumu souvisejícím s hojením ran, stárnutím a tkáňovým inženýrstvím vzhledem k jejich významné roli v procesech opravy a regenerace kůže. Kromě toho slouží jako důležitý model pro studium chování fibroblastů u různých dermatologických stavů a onemocnění.

Buňky HDF-Ad jsou vysoce citlivé na vnější podněty, což z nich činí cenný nástroj pro zkoumání buněčných reakcí na různé faktory prostředí, jako je UV záření, oxidační stres a různé farmaceutické sloučeniny. Jejich schopnost proliferace a produkce základních proteinů za kontrolovaných podmínek je rovněž činí vhodnými pro studie v oblasti vývoje léčiv, zejména v kontextu testování kožní toxicity a účinnosti. Tyto buňky si zachovávají mnoho fyziologických charakteristik své původní tkáně, a poskytují tak vhodný model pro studie in vitro zaměřené na pochopení biologie kůže na molekulární a buněčné úrovni.

Organism Člověk**Tissue** Dermis**Charakteristika****Ethnicity** Kavkazský**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje****Citation** Lidský kožní fibroblast, dospělý (HDF-Ad) (katalogové číslo Cytion 300606)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekulární data****Protein expression** Pozitivní: CD73/CD90/CD105 Negativní: CD14/CD34/CD45/HLA-DR**Tumorigenic** Ne

Lidský kožní fibroblast - dospělý (HDF-Ad) | 300606

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

Zpracování

Culture Medium	MEM, bez ribonukleosidů, bez deoxyribonukleosidů (Tento produkt nedodáváme; zvažte prosím jiné dodavatele. Pokud potřebujete další pomoc, dejte nám prosím vědět)
-----------------------	---

Supplements	Doplňte médium 10% FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilního L-glutaminu
--------------------	--

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

Subculturing	Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsadte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte odpovídající objem roztoku trypsinu/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C, dokud se buňky neoddělí (5-10 minut). Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně buňky resuspendujte a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % CO ₂ a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.
---------------------	--

Seeding density	1 až 3*10 ³ buněk/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
----------------------	------------------

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.
----------------------	--

Lidský kožní fibroblast - dospělý (HDF-Ad) | 300606**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 zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího 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 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

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.

Lidský kožní fibroblast - dospělý (HDF-Ad) | 300606

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 vizuální kontrolám.