

Inimese eesnaha fibroblastarakud (HFFC) | 300715**Üldine teave****Description**

Inimese eesnaha fibroblastarakud (HFFC) on saadud noorukite eesnaha fibroblastkudedest. Need rakud on oluline vahend inimese bioloogia uurimisel, eriti haavade paranemise, naha bioloogia ja rakkude vananemisega seotud uuringutes. Fibroblastid mängivad olulist rolli ekstratsellulaarse matriksi ja kollageeni sünteesis, mis on sidekoe olulised komponendid. HFFC-d kasutatakse sageli katsetes, mis uurivad naha arengu mehhanisme, naha ümberkujundamist ja rakkude reaktsioone erinevatele kasvufaktoritele ja tsütokiinidele.

HFFC-d iseloomustab nende väärtus morfoloogia ja võime kiiresti paljuneda in vitro, mis teeb need sobivaks mitmesugusteks eksperimentaalseteks rakendusteks, sealhulgas koetehnoloogia, regeneratiivne meditsiin ja ravimite sõelumine. Need rakud on väärtuslikud ka uuringutes, mis uurivad UV-kiirguse mõju naharakkudele, fibroosiliste haiguste patofüsioloogiat ja naha vananemisprotsessi. Kuna HFFC on pärit vastsündinutelt, on neil vähem mutatsioone kui täiskasvanud fibroblastidel, mis teeb neist ideaalse mudeli primaarrakkude funktsioonide uurimiseks.

Organism

Inimene

Tissue

Eesnahk

Omadused**Morphology**

Fibroblastide

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed**Citation**

Inimese eesnaha fibroblastide rakud (HFFC) (Cytion kataloogi number 300715)

NCBI_TaxID

9606

Biomolekulaarsed andmed**Töötlemine****Culture Medium**DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements**

Täiendada söötme 10% FBS, 10 ng/ml bFGF, 10 mikrogrammi/L insuliini

Inimese eesnaha fibroblastarakud (HFFC) | 300715

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspendeerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium

Krüokonserveerimise keskkonda kasutame 90% FBS + 10% DMSO elujõulisuse säilitamiseks või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Inimese eesnaha fibroblastarakud (HFFC) | 300715

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige kontainerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige kontainerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.