

Ihmisen esinahan fibroblastisolut (HFFC) | 300715

Yleisiä tietoja

Description

Ihmisen esinahan fibroblastisolut (HFFC) ovat peräisin nuoren esinahan fibroblastikudoksesta. Nämä solut ovat välttämätön työkalu ihmisen biologian tutkimuksessa, erityisesti haavan paranemiseen, ihon biologiaan ja solujen ikääntymiseen liittyvissä tutkimuksissa. Fibroblastit ovat tärkeässä roolissa soluväliaineen ja kollageenin synteesissä, jotka ovat sidekudoksen keskeisiä komponentteja. HFFC-soluja käytetään usein kokeissa, joissa tutkitaan ihon kehityksen mekanismeja, ihon uudistumista ja solujen reaktioita erilaisiin kasvutekijöihin ja sytokiiniin.

HFFC-soluille on ominaista sukkulamainen morfologia ja kyky lisääntyä nopeasti in vitro, minkä ansiosta ne soveltuvat erilaisiin kokeellisiin sovelluksiin, kuten kudostekniikkaan, regeneratiiviseen lääketieteeseen ja lääkeaineiden seulontaan. Nämä solut ovat arvokkaita myös tutkimuksissa, joissa tutkitaan UV-säteilyn vaikutuksia ihosoluihin, fibroottisten sairauksien patofysiologiaa ja ihon ikääntymisprosessia. Koska HFFC-solut ovat peräisin vastasyntyneistä, niissä on todennäköisesti vähemmän mutaatioita kuin aikuisten fibroblasteissa, mikä tekee niistä ihanteellisen mallin primaaristen solutoimintojen tutkimiseen.

Organism

Ihminen

Tissue

Esinahka

Ominaisuudet

Morphology

Fibroblastit

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

Ihmisen esinahan fibroblastisolut (HFFC) (Cytionin luettelonumero 300715)

NCBI_TaxID

9606

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

Culture Medium

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)

Supplements

Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 10 ng/mL bFGF:llä, 10 mikrogrammaa/l insuliinia

Ihmisen esinahan fibroblastisolut (HFFC) | 300715**Dissociation Reagent**

Accutase

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Freeze medium

Kryosäilytysmediaa käytämme 90 % FBS + 10 % DMSO:ta elinkelpoisuuden ylläpitämiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Ihmisen esinahan fibroblastisolut (HFFC) | 300715

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 -- 196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.