

Cilvēka priekšādas fibroblastu šūnas (HFFC) | 300715**Vispārīga informācija****Description**

Cilvēka priekšādas fibroblastu šūnas (HFFC) ir iegūtas no jauniešu priekšādas fibroblastu audiem. Šīs šūnas ir būtisks instruments cilvēka bioloģijas pētījumos, jo īpaši pētījumos, kas saistīti ar brūču sadzīšanu, ādas bioloģiju un šūnu novecošanos. Fibroblasti spēlē izšķirošu lomu ekstracelulārās matricas un kolagēna sintēzē, kas ir saistaudu būtiskas sastāvdaļas. HFFC bieži izmanto eksperimentos, pētot ādas attīstības mehānismus, ādas pārveidošanos un šūnu reakcijas uz dažādiem augšanas faktoriem un citokīniem.

HFFC raksturīga vārpstas formas morfoloģija un spēja ātri vairoties in vitro, tādēļ tās ir piemērotas dažādiem eksperimentāliem pielietojumiem, tostarp audu inženierijā, reģeneratīvajā medicīnā un zāļu skrīningā. Šīs šūnas ir vērtīgas arī pētījumos, kuros izpēta UV starojuma ietekmi uz ādas šūnām, fibrozo slimību patofizioloģiju un ādas novecošanās procesu. Tā kā HFFC ir neonaudālas izcelsmes, tām ir mazāka iespēja uzkrāt mutācijas salīdzinājumā ar pieaugušo fibroblastiem, tādējādi padarot tās par ideālu modeli primāro šūnu funkciju izpētei.

Organism Cilvēks

Tissue Priekšāda

Raksturojums

Morphology Fibroblasti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Cilvēka priekšādas fibroblastu šūnas (HFFC) (Cytion kataloga numurs 300715)

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulārie dati**Darbs ar**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS, 10 ng/ml bFGF, 10 mikrogramu/l insulīna

Cilvēka priekšādas fibroblastu šūnas (HFFC) | 300715

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 90 % FBS + 10 % DMSO dzīvotspējas uzturēšanai vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsiet vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Cilvēka priekšādas fibroblastu šūnas (HFFC) | 300715**Flask Coating**

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.