

**Cilvēka smaganu fibroblasti (hGF) | 300703****Vispārīga informācija****Description**

Cilvēka smaganu fibroblasti (hGF) ir primārās šūnas, kas iegūtas no mutes dobuma gingīvu jeb smaganu saistaudiem. Šiem fibroblastiem ir izšķiroša nozīme smaganu audu strukturālās integritātes uzturēšanā, jo tie ražo ekstracelulārā matricas sastāvdaļas, tostarp kolagēnu, elastīnu un glikozaminoglikānus. To spēja proliferēt un migrēt ir būtiska brūču dzīšanai, audu atjaunošanai un atbildes reakcijai uz periodonta slimībām. Papildus strukturālajām funkcijām hGF ir iesaistīti iekaisuma reakcijās smaganās, mijiedarbojoties ar dažādām imūnšūnām un starpniekojot citokīnu un augšanas faktoru izdalīšanos. Tas padara tās par galveno šūnu modeli mutes dobuma veselības, periodonta slimību un audu reģenerācijas izpētei.

hGF šūnas plaši izmanto pētījumos, kas vērsti uz mutes dobuma bioloģiju, jo īpaši periodonta slimību patofizioloģijas izpratnē, kur lielu interesi izraisa fibroblastu un patogēno baktēriju, piemēram, \*Porphyromonas gingivalis\*, mijiedarbība. Šīs šūnas tiek izmantotas arī audu inženierijā un reģeneratīvajā medicīnā, jo īpaši izstrādājot terapiju smaganu un periodonta defektu ārstēšanai. Bieži tiek pētīta to reakcija uz dažādiem biomateriāliem, augšanas faktoriem un ekstracelulārā matricas komponentiem, lai optimizētu apstākļus audu atjaunošanai un reģenerācijai mutes dobuma ķirurģijā un zobu implantos.

**Organism**

Cilvēks

**Tissue**

Gingiva

**Applications**

Audu reģenerācija, brūču dzīšanas pētījumi

**Raksturojums****Cell type**

Fibroblasti

**Growth properties**

Adherent

**Normatīvie dati****Citation**

Cilvēka smaganu fibroblasti (hGF) (Cytion kataloga numurs 300703)

**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 NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

**Cilvēka smaganu fibroblasti (hGF) | 300703**

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

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt 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 atveseļošanas 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 pārnēsāt 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.

**Cilvēka smaganu fibroblasti (hGF) | 300703****Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, mitrināta atmosfēra.

**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 starposms 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 pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.