

Ludzki fibroblast skórny - dorosły (HDF-Ad) | 300606**Informacje ogólne****Description**

Human Dermal Fibroblasts, Adult (HDF-Ad) to pierwotne komórki izolowane z warstwy skóry właściwej dorosłego człowieka. Komórki te odgrywają kluczową rolę w fizjologii skóry, odpowiadając za produkcję składników macierzy zewnątrzkomórkowej, w tym kolagenu i elastyny, które są niezbędne do utrzymania struktury i funkcji skóry. Komórki HDF-Ad są często wykorzystywane w badaniach związanych z gojeniem się ran, starzeniem i inżynierią tkankową, biorąc pod uwagę ich znaczącą rolę w procesach naprawy i regeneracji skóry. Ponadto służą one jako ważny model do badania zachowania fibroblastów w różnych stanach i chorobach dermatologicznych.

Komórki HDF-Ad są wysoce wrażliwe na bodźce zewnętrzne, co czyni je cennym narzędziem do badania odpowiedzi komórkowych na różne czynniki środowiskowe, takie jak promieniowanie UV, stres oksydacyjny i różne związki farmaceutyczne. Ich zdolność do proliferacji i produkcji niezbędnych białek w kontrolowanych warunkach sprawia, że nadają się również do badań nad rozwojem leków, szczególnie w kontekście toksyczności skórnej i testów skuteczności. Komórki te zachowują wiele cech fizjologicznych tkanki, z której pochodzą, zapewniając odpowiedni model do badań in vitro mających na celu zrozumienie biologii skóry na poziomie molekularnym i komórkowym.

Organism

Człowiek

Tissue

Skóra właściwa

Charakterystyka**Ethnicity**

Kaukaski

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne**Citation**

Ludzki fibroblast skórny, dorosły (HDF-Ad) (numer katalogowy Cytion 300606)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Dane biomolekularne**Protein expression**

Pozytywne: CD73/CD90/CD105 Negatywne: CD14/CD34/CD45/HLA-DR

Ludzki fibroblast skórny - dorosły (HDF-Ad) | 300606**Tumorigenic** Nie**Viruses** Ujemny dla: HIV-1/2, HBV, HCV, HSV1/2, CMV, EBV, HHV6, Treponema pallidum, Toxoplasma gondii, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum, Ureoplasma parvum**Obsługa****Culture Medium** MEM, bez rybonukleozydów, bez dezoksyrybonukleozydów (Nie dostarczamy tego produktu; prosimy o rozważenie innych dostawców. Daj nam znać, jeśli potrzebujesz dalszej pomocy)**Supplements** Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 2 ng/ml hr-bFGF, 2 mM stabilnej L-glutaminy**Dissociation Reagent** Trypsyna-EDTA**Subculturing** W przypadku rutynowej hodowli komórek przylegających: Odessać starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS w celu usunięcia pozostałości pożywki. Po odessaniu PBS, dodać odpowiednią objętość roztworu Trypsyna/EDTA w zależności od wielkości naczynia hodowlanego (np. 1 ml dla kolby T25, 3 ml dla kolby T75) i inkubować w temperaturze pokojowej lub 37°C do momentu odłączenia się komórek (5-10 minut). Monitoruj oderwanie pod mikroskopem i delikatnie postukaj w naczynie, jeśli to konieczne, aby uwolnić komórki. Po odłączeniu dodać pełną pożywkę w celu inaktywacji trypsyny/EDTA, delikatnie ponownie zawiesić komórki i przenieść porcję zawiesiny komórek do nowego naczynia hodowlanego zawierającego świeżą pożywkę. Umieścić naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5%_{CO2} i zmieniać pożywkę co 2-3 dni.**Seeding density** 1 do 3*10³ komórek/cm²**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 90% FBS + 10% DMSO w celu utrzymania żywotności lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), który zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Ludzki fibroblast skórny - dorosły (HDF-Ad) | 300606**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ludzki fibroblast skórny - dorosły (HDF-Ad) | 300606

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.