Ludzkie osteoblasty (HOB)

300700

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Pierwotne ludzkie osteoblasty (HOB) izoluje się z tkanki kostnej. Wykorzystuje się je do badania biokompatybilności materiałów implantacyjnych, takich jak tytan, oraz do tworzenia modeli kostnych in vitro.
W hodowli osteogenicznej pierwotne ludzkie osteoblasty wykazują aktywność fosfatazy alkalicznej i tworzą zmineralizowane guzki, co stanowi najczęściej stosowane wskaźniki tworzenia się kości in vitro. Można je łączyć z osteoklastami i osteocytami w celu modelowania przebudowy kości. Zdolność osteogeniczna może się różnić w zależności od dawcy.

Chusteczka	Kość
Choroba	Normalna kość (osteoblast; komórka pierwotna o charakterze nie nowotworowym)
Miejsce przerzutów	Nie dotyczy (normalna, niepowodująca nowotworów komórka pierwotna)

Zastosowania

Biokompatybilność implantów: powierzchnie tytanowe poddane obróbce plazmowej; Biokompatybilność i potencjał zapalny stopów tytanu; Model kości in vitro: potrójna hodowla z udziałem osteoklastów i osteocytów; Badania cytotoksyczności wyrobów medycznych in vitro; Stymulacja biofizyczna dojrzewania osteoblastów i mineralizacji macierzy; Sygnalizacja purynergiczna i mechanotransdukcja w procesie tworzenia kości

Synonimy

- HOB
- Human osteoblasts

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	Specyficzne dla partii (patrz certyfikat analizy)
Pochodzenie etniczne	Specyficzne dla partii (patrz certyfikat analizy)

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Specyficzne dla partii
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	Bez GMO

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

Bez modyfikacji genetycznych; pierwotne ludzkie osteoblasty wyizolowane z tkanki kostnej. Nie są transformowane ani uwiecznione.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Morfologia	Od wielokątnego do wrzecionowatego (osteoblast)
Typ komórki	Osteoblasty pierwotne
Nowotworotwórczy	Nie

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Czas podwojenia	Nie podano przez firmę AddexBio; typowy czas podwojenia liczby pierwotnych osteoblastów wynosi 48–72 godzin

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

Zestaw pożywki do hodowli osteoblastów (numer katalogowy Cytion 850057); Mieszanka pożywki do hodowli osteoblastów (numer katalogowy Cytion 850056); Zestaw pożywki do różnicowania osteoblastów (numer katalogowy Cytion 850060)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5% CO_2, wilgotność nasycona.

Suplementy

Kompletna pożywka hodowlana (AddexBio C0013-01 „wszystko w jednym"; nie wymaga dodatkowego uzupełnienia surowicy). Do kriokonserwacji: kompletna pożywka hodowlana + 10% FBS + 10% DMSO.

Odczynnik dysocjacyjny	Odczynniki do hodowli komórkowej zgodnie z zaleceniami zawartymi w certyfikacie analizy

Hodowla komórek w subkulturze

Należy przeprowadzić subkulturę komórek przy około 75-procentowej konfluencji. Gęstsze hodowle ulegają nieodwracalnemu zahamowaniu kontaktowemu i przestają się namnażać. Należy stosować odczynniki do subkultury zalecane w certyfikacie analizy.

Współczynnik podziału	Zalecana gęstość wysiewu: 4 × 10^3 komórek/cm^2 (patrz protokół firmy AddexBio)
Gęstość wysiewu	Ponad 2 000 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	24 godziny po wysiewie, a następnie co 48–72 godziny
Powrót do stanu sprzed rozmrożenia	Żywotność po rozmrożeniu ≥ 70 % żywych komórek. Stopień pokrycia powierzchni ponad 80 % w przewidywanym okresie regeneracji.

Rozmrażanie i hodowla

Należy szybko rozmrozić probówkę kriogeniczną w łaźni wodnej o temperaturze 37 °C, delikatnie ją obracając. Tuż przed stopnieniem ostatniego lodu należy przenieść probówkę do komory z przepływem laminarnym i zdezynfekować jej powierzchnię zewnętrzną.
Przenieść zawiesinę komórek do probówki wirówkowej o pojemności 15 ml, dodać 10 ml pożywki do hodowli osteoblastów i odwirować przy 250 × g przez 5 minut.
Usunąć supernatant i ponownie zawiesić osad komórkowy w 10 ml pożywki do hodowli osteoblastów. Sprawdzić liczbę komórek i ich żywotność.
Rozdzielić zawiesinę między dwie kolby hodowlane o powierzchni 25 cm^2 (po 5 ml do każdej). Zastosowanie dwóch kolb zmniejsza ryzyko utraty wszystkich komórek w przypadku niepowodzenia pasażowania.
Inkubować w temperaturze 37 °C, przy stężeniu CO_2 wynoszącym 5% i wilgotności nasyconej, z pokrywkami śrubowymi odkręconymi o pół obrotu w celu wymiany gazowej.
Po 24 godzinach należy wymienić pożywkę w celu usunięcia komórek nieprzylegających, a następnie co 48–72 godziny, używając wyłącznie wstępnie ogrzanej pożywki.
Należy przeprowadzić subkulturę komórek przy około 75% konfluencji. Gęstsze hodowle ulegają nieodwracalnemu zahamowaniu kontaktowemu i przestają się namnażać. Należy stosować odczynniki do subkultury zalecane w certyfikacie analizy.
Zalecana gęstość wysiewu: ponad 2000 komórek/cm^2.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmami wyklucza się za pomocą testu PCR.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteryjnego, grzybiczego ani drożdżowego, hodowle poddaje się kontroli wzrokowej.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywkę do kriokonserwacji stosujemy kompletną pożywkę wzrostową z dodatkiem 10% DMSO, aby zapewnić odpowiednią żywotność komórek po rozmrożeniu.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania fiolki należy przechowywać w ciekłym azocie w temperaturze od około −150 do −196 °C.
Przechowywanie w temperaturze −80 °C jest dopuszczalne wyłącznie przez okres do jednego tygodnia.

Warunki wysyłki

Komórki pierwotne poddane kriokonserwacji są wysyłane w lodzie suchym. Po otrzymaniu przesyłki należy sprawdzić, czy probówka kriogeniczna nie jest uszkodzona, a następnie bezzwłocznie umieścić ją w odpowiednim miejscu przechowywania.

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Ekspresja białek

Fosfataza alkaliczna (ALP); wynik dodatni dla markerów mineralizacji kości

Wirusy

Bez zakażenia wirusem HIV, wirusem zapalenia wątroby typu B, wirusem HPV, wirusem EBV i wirusem CMV (wynik negatywny potwierdzony przez firmę AddexBio; P0004010)

IDENTYFIKATORY

Źródło

Ludzkie osteoblasty (HOB) (numer katalogowy Cytion 300700)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	Not assigned

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie probówki kriogenicznej w ciekłym azocie w celu późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice ochronne i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski ochronnej lub okularów ochronnych. Ma to na celu ograniczenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami krioprobówek podczas ich wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych odłamków. Komórki pierwotne pochodzą od człowieka i nie ma znanej procedury badawczej, która mogłaby zagwarantować całkowity brak czynników zakaźnych. Wszystkie produkty należy traktować jako potencjalnie zakaźne.

Gwarancja

W firmie Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne od momentu rozpoczęcia hodowli przez
60 dni od daty wysyłki z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w
Certyfikacie analizy i/lub Karcie produktu.
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszym
Oświadczeniu gwarancyjnym.

Wymagana umowa o transferze materiałów	Yes