

Клетки HFF-1 | 305790

Обща информация

Description

HFF-1 е клетъчна линия от човешки предкожни фибробласти, която често се използва като хранващ слой за култивиране на човешки ембрионални стволови клетки (hESCs) и индуцирани плурипотентни стволови клетки (iPSCs). Получени от неонатална кожна тъкан, клетките HFF-1 осигуряват основни компоненти на извънклетъчния матрикс и отделят ключови сигнални молекули, които подпомагат прикрепването на hESC и частично поддържат тяхното плурипотентно състояние. Тези фибробласти са оценени за експресията на няколко поддържащи плурипотентността растежни фактори, включително TGFβ1, активин А и фибробластен растежен фактор 2 (FGF-2), въпреки че ефективността им като хранващи клетки може да варира в зависимост от конкретната линия и условията на култивиране.

При сравнителни проучвания фибробласти от човешка препуциумна кожа като HFF-1 отделят откриваеми нива на FGF-2 и активин А, въпреки че нивата им на секреция обикновено са по-ниски от тези, наблюдавани при миши ембрионални фибробласти. Клетките HFF-1 също експресират мРНК и протеин на BMP-4, въпреки че нивата на секретираните димери на BMP-4 са изключително ниски и често са неоткриваеми в кондиционираната среда, вероятно поради вътреклетъчна секвестрация или инхибиране от гремлин. Важно е да се отбележи, че секрецията на растежни фактори от HFF-1 се модулира от митотичната инактивация (напр. третиране с митомицин С) и състава на средата (напр. заместител на нокдаун срещу фетален говежди серум). Способността на HFF-1 клетките да поддържат недиференциран растеж на hESC корелира с тяхната секреция на активин А и TGFβ1, въпреки че допълването с екзогенен активин А може да подобри поддържането на маркери за плурипотентност като SSEA3, когато тези клетки се използват като хранващи.

Като цяло HFF-1 служи като полезен модел на хранващи клетки от човешки произход за системи за култивиране на стволови клетки, целящи намаляване на ксенокомпонентите. Въпреки това капацитетът им за поддържане на дългосрочни недиференцирани култури от hESC обикновено се счита за по-малко стабилен от този на хранващите клетки, получени от мишки, освен ако не се комбинира с добавяне на специфични растежни фактори. Техният човешки произход обаче ги прави особено привлекателни за клинични и транслационни приложения на стволови клетки, при които условията без ксеногенни вещества са от съществено значение.

Organism Човек

Tissue Препуциум, кожа

Synonyms HFF1

Характеристики

Age <1 месец

Gender Мъжки

Morphology Фибробласти

Клетки HFF-1 | 305790

Cell type Фибробласт на препуциума

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HFF-1 (каталожен номер 305790 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3285

Биомолекулярни данни

Mutational profile

Работа с

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Supplements Допълнете средата с 15% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HFF-1 | 305790

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HFF-1 | 305790

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.