

## Buňky HFF-1 | 305790

## Obecné informace

## Description

HFF-1 je buněčná linie lidských fibroblastů předkožky, která se často používá jako napájecí vrstva pro kultivaci lidských embryonálních kmenových buněk (hESC) a indukovaných pluripotentních kmenových buněk (iPSC). Buňky HFF-1, odvozené z novorozenecké kožní tkáně, poskytují základní složky extracelulární matrix a vylučují klíčové signální molekuly, které podporují uchycení hESC a částečně podporují jejich pluripotentní stav. Tyto fibroblasty byly hodnoceny z hlediska exprese několika růstových faktorů podporujících pluripotenci, včetně TGFβ1, aktivinu A a fibroblastového růstového faktoru 2 (FGF-2), ačkoli jejich účinnost jako napájecích buněk se může lišit v závislosti na konkrétní linii a kultivačních podmínkách.

Ve srovnávacích studiích lidské fibroblasty předkožky, jako je HFF-1, vylučují detekovatelné hladiny FGF-2 a aktivinu A, ačkoli jejich hladiny sekrece jsou obecně nižší než hladiny pozorované u myších embryonálních fibroblastů. Buňky HFF-1 také exprimují mRNA a protein BMP-4, ačkoli hladiny vylučovaných dimerů BMP-4 jsou extrémně nízké a často nedetekovatelné v kondicionovaném médiu, pravděpodobně v důsledku intracelulární sekvestrace nebo inhibice gremlinem. Důležité je, že sekrece růstových faktorů HFF-1 je modulována mitotickou inaktivací (např. ošetřením mitomycinem C) a složením média (např. KnockOut Serum Replacement vs. fetální bovinní sérum). Schopnost buněk HFF-1 podporovat růst nediferencovaných hESC koreluje s jejich sekrecí aktivinu A a TGFβ1, ačkoli doplnění exogenního aktivinu A může zlepšit udržení markerů pluripotence, jako je SSEA3, pokud jsou tyto buňky použity jako živné.

Celkově lze říci, že HFF-1 slouží jako užitečný model napájecích buněk odvozených od člověka pro systémy kultivace kmenových buněk, jejichž cílem je snížit množství xeno-složek. Jejich schopnost udržovat dlouhodobé nediferencované kultury hESC je však obecně považována za méně robustní než u napájecích buněk myšího původu, pokud není kombinována s doplněním specifických růstových faktorů. Jejich lidský původ je však činí obzvláště atraktivními pro klinické a translační aplikace kmenových buněk, kde jsou podmínky bez xenogenních látek nezbytné.

**Organism** Člověk

**Tissue** Předkožka, kůže

**Synonyms** HFF1

## Charakteristika

**Age** <1 měsíc

**Gender** Muži

**Morphology** Fibroblasty

**Cell type** Fibroblast předkožky

## Buňky HFF-1 | 305790

<b>Growth properties</b>	Adherentní
--------------------------	------------

## Regulační údaje

<b>Citation</b>	HFF-1 (katalogové číslo Cytion 305790)
-----------------	--

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_3285
-----------------------------	-----------

## Biomolekulární data

<b>Mutational profile</b>	
---------------------------	--

## Zpracování

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Doplňte médium 15% FBS
--------------------	------------------------

<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
-----------------------------	----------

<b>Fluid renewal</b>	2 až 3krát týdně
----------------------	------------------

<b>Freeze medium</b>	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
----------------------	--

## Buňky HFF-1 | 305790

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žádný

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## Buňky HFF-1 | 305790

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.