

HFF-1-celler | 305790

General information

Description

HFF-1 er en human forhudsfibroblastcellelinje, der ofte bruges som feederlag til dyrkning af humane embryonale stamceller (hESC'er) og inducerede pluripotente stamceller (iPSC'er). HFF-1-celler, der stammer fra neonatalt hudvæv, leverer vigtige ekstracellulære matrixkomponenter og udskiller vigtige signalmolekyler, der fremmer hESC-tilhæftning og delvist understøtter deres pluripotente tilstand. Disse fibroblaster er blevet evalueret for deres udtryk for flere pluripotensunderstøttende vækstfaktorer, herunder TGFβ1, activin A og fibroblastvækstfaktor 2 (FGF-2), selv om deres effektivitet som feederceller kan variere afhængigt af den specifikke linje og kulturbetingelserne.

I sammenlignende undersøgelser udskiller humane forhudsfibroblaster som HFF-1 påviselige niveauer af FGF-2 og activin A, selv om deres udskillelsesniveauer generelt er lavere end dem, der observeres i embryonale fibroblaster fra mus. HFF-1-celler udtrykker også BMP-4 mRNA og protein, selvom de udskilte niveauer af BMP-4-dimerer er ekstremt lave og ofte ikke kan påvises i konditionerede medier, sandsynligvis på grund af intracellulær sekvestrering eller inhibering af gremlin. Det er vigtigt at bemærke, at HFF-1's udskillelse af vækstfaktorer moduleres af mitotisk inaktivering (f.eks. mitomycin C-behandling) og mediasammensætning (f.eks. KnockOut Serum Replacement vs. føtalt bovint serum). HFF-1-cellers evne til at understøtte udifferentieret hESC-vækst korrelerer med deres udskillelse af activin A og TGFβ1, selvom tilskud med eksogent activin A kan forbedre vedligeholdelsen af pluripotensmarkører som SSEA3, når disse celler bruges som feeders.

Samlet set fungerer HFF-1 som en nyttig humant afledt feeder-cellemodel til stamcellekultursystemer, der sigter mod at reducere xeno-komponenter. Men deres evne til at opretholde udifferentierede hESC-kulturer på lang sigt anses generelt for at være mindre robust end feederceller fra mus, medmindre de kombineres med specifikke vækstfaktortilskud. Deres menneskelige oprindelse gør dem dog særligt attraktive til kliniske og translationelle stamcelleanvendelser, hvor xenofrie forhold er afgørende.

Organism Menneske

Tissue Forhud, hud

Synonyms HFF1

Karakteristika

Age <1 måned

Gender Mand

Morphology Fibroblast

Cell type Fibroblaster fra forhuden

Growth properties Vedhæftende

HFF-1-celler | 305790

Regulatoriske data

Citation	HFF-1 (Cytion katalognummer 305790)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3285

Biomolekylære data

Mutational profile	
---------------------------	--

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 15% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HFF-1-celler | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HFF-1-celler | 305790

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.