

HFF-1-Zellen | 305790

Allgemeine Informationen

Description

HFF-1 ist eine humane Vorhautfibroblasten-Zelllinie, die häufig als Feederschicht für die Kultur humaner embryonaler Stammzellen (hESCs) und induzierter pluripotenter Stammzellen (iPSCs) verwendet wird. Die aus neonatalem Hautgewebe stammenden HFF-1-Zellen liefern wichtige extrazelluläre Matrixkomponenten und sezernieren wichtige Signalmoleküle, die die Anheftung von hESCs fördern und deren pluripotenten Zustand teilweise unterstützen. Diese Fibroblasten wurden auf ihre Expression mehrerer pluripotenzfördernder Wachstumsfaktoren untersucht, darunter TGF β 1, Activin A und Fibroblasten-Wachstumsfaktor 2 (FGF-2), obwohl ihre Wirksamkeit als Feederzellen je nach spezifischer Linie und Kulturbedingungen variieren kann.

In vergleichenden Studien sezernieren menschliche Vorhautfibroblasten wie HFF-1 nachweisbare Mengen an FGF-2 und Activin A, obwohl ihre Sekretionsmengen im Allgemeinen niedriger sind als die von embryonalen Fibroblasten der Maus. HFF-1-Zellen exprimieren auch BMP-4-mRNA und -Protein, obwohl die sezernierten Mengen an BMP-4-Dimeren extrem niedrig und in konditionierten Medien oft nicht nachweisbar sind, was wahrscheinlich auf intrazelluläre Sequestrierung oder Hemmung durch Gremlin zurückzuführen ist. Wichtig ist, dass die Sekretion von Wachstumsfaktoren durch HFF-1 durch mitotische Inaktivierung (z. B. Mitomycin C-Behandlung) und Medienzusammensetzung (z. B. KnockOut Serum Replacement vs. fötales Rinderserum) moduliert wird. Die Fähigkeit von HFF-1-Zellen, undifferenziertes hESC-Wachstum zu unterstützen, korreliert mit ihrer Sekretion von Activin A und TGF β 1, obwohl eine Ergänzung mit exogenem Activin A die Aufrechterhaltung von Pluripotenzmarkern wie SSEA3 verbessern kann, wenn diese Zellen als Feeders verwendet werden.

Insgesamt dient HFF-1 als nützliches menschliches Feeder-Zellmodell für Stammzellkultursysteme, die darauf abzielen, Xeno-Komponenten zu reduzieren. Ihre Fähigkeit, langfristige undifferenzierte hESC-Kulturen aufrechtzuerhalten, wird jedoch im Allgemeinen als weniger robust angesehen als die von aus der Maus stammenden Feeder-Zellen, es sei denn, sie werden mit spezifischen Wachstumsfaktoren ergänzt. Ihr menschlicher Ursprung macht sie jedoch besonders attraktiv für klinische und translationale Stammzellenanwendungen, bei denen xenofreie Bedingungen unerlässlich sind.

Organism Menschen

Tissue Vorhaut, Haut

Synonyms HFF1

Merkmale

Age <1 Monat

Gender Männlich

Morphology Fibroblasten

Cell type Fibroblasten der Vorhaut

HFF-1-Zellen | 305790

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation HFF-1 (Cytion Katalognummer 305790)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3285

Biomolekulare Daten

Mutational profile

Handhabung

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 15% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HFF-1-Zellen | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HFF-1-Zellen | 305790

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.