Product sheet

Κύτταρα HFF-1 | 305790

Γενικές πληροφορίες

Description	Το HFF-1 είναι μια σειρά ανθρώπινων ινοβλαστών της ακροποσθίας που χρησιμοποιείται συχνά ως στρώμα τροφοδότη για την καλλιέργεια ανθρώπινων εμβρυϊκών βλαστικών κυττάρων (hESC) και επαγόμενων πολυδύναμων βλαστικών κυττάρων (iPSC). Προερχόμενα από νεογνικό δερματικό ιστό, τα κύτταρα HFF-1 παρέχουν βασικά συστατικά εξωκυτταρικής μήτρας και εκκρίνουν βασικά σηματοδοτικά μόρια που προάγουν την προσκόλληση των hESC και υποστηρίζουν εν μέρει την πολυδύναμη κατάστασή τους. Αυτοί οι ινοβλάστες έχουν αξιολογηθεί ως προς την έκφραση διαφόρων αυξητικών παραγόντων που υποστηρίζουν την πολυδυναμία, συμπεριλαμβανομένων των TGFβ1, της ακτιβίνης A και του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών 2 (FGF-2), αν και η αποτελεσματικότητά τους ως κύτταρα τροφοδότησης μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τη συγκεκριμένη σειρά και τις συνθήκες καλλιέργειας. Σε συγκριτικές μελέτες, οι ινοβλάστες ανθρώπινης ακροποσθίας όπως ο HFF-1 εκκρίνουν ανιχνεύσιμα επίπεδα FGF-2 και ακτιβίνης A, αν και τα επίπεδα έκκρισής τους είναι γενικά χαμηλότερα από εκείνα που παρατηρούνται στους εμβρυϊκούς ινοβλάστες ποντικού. Τα κύτταρα HFF-1 εκφράζουν επίσης το mRNA και την πρωτεΐνη BMP-4, αν και τα εκκρινόμενα επίπεδα διμερών BMP-4 είναι εξαιρετικά χαμηλά και συχνά μη ανιχνεύσιμα στο εξαρτημένο μέσο, πιθανότατα λόγω ενδοκυτταρικής δέσμευσης ή αναστολής από τη γκρεμλίνη. Είναι σημαντικό ότι η έκκριση αυξητικών παραγόντων από τον HFF-1 διαμορφώνεται από τη μιτωτική αδρανοποίηση (π.χ. θεραπεία με μιτομυκίνη C) και τη σύνθεση των μέσων (π.χ. αντικατάσταση ορού KnockOut έναντι εμβρυϊκού ορού βοοειδών). Η ικανότητα των κυττάρων HFF-1 να υποστηρίζουν την ανάπτυξη αδιαφοροποίητων hESC συσχετίζεται με την έκκριση ακτιβίνης A και TGFβ1, αν και η συμπλήρωση με εξωγενή ακτιβίνη A μπορεί να βελτιώσει τη διατήρηση δεικτών πολυδυναμίας, όπως ο SSEA3, όταν αυτά τα κύτταρα χρησιμοποιούνται ως τροφοδότες. Συνολικά, το HFF-1 χρησιμεύει ως ένα χρήσιμο μοντέλο κυττάρων τροφοδοσίας ανθρώπινης προέλευσης για συστήματα καλλιέργειας βλαστικών κυττάρων που αποσκοπούν στη μείωση των ξένων συστατικών. Ωστόσο, η ικανότητά τους να διατηρούν μακροχρόνιες αδιαφοροποίητες καλλιέργειες hESC θεωρείται γενικά λιγότερο ισχυρή από εκείνη των κυττάρων τροφοδοσίας που προέρχονται από ποντίκια, εκτός εάν συνδυαστεί με τη συμπλήρωση ειδικών αυξητικών παραγόντων. Η ανθρώπινη προέλευσή τους, ωστόσο, τα καθιστά ιδιαίτερα ελκυστικά για κλινικές και μεταφραστικές εφαρμογές βλαστικών κυττάρων, όπου οι συνθήκες απαλλαγμένες από ξένες ουσίες είναι απαραίτητες.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Ακροποσθία, δέρμα
Synonyms	HFF1

Χαρακτηριστικά

Age	<1 μήνα
Gender	Άντρας
Morphology	Ινοβλάστες

Κύτταρα HFF-1 | 305790

Cell type	Ινοβλάστη της ακροποσθίας
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 15% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HFF-1 | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HFF-1 | 305790

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.