

HFF-1 rakud | 305790

Üldine teave

Description

HFF-1 on inimese eesnaha fibroblastide rakuliin, mida kasutatakse sageli inimese embrüonaalsete tüvirakkude (hESC) ja indutseeritud pluripotentsete tüvirakkude (iPSC) kasvatamisel. HFF-1 rakud on saadud vastsündinu nahakudusest, nad annavad olulisi rakuvälise maatriksi komponente ja eritavad olulisi signaalimolekule, mis soodustavad hESC-i kinnitumist ja toetavad osaliselt nende pluripotentset seisundit. Nende fibroblastide ekspressiooni on hinnatud mitmete pluripotentsust toetavate kasvufaktorite, sealhulgas TGFβ1, activin A ja fibroblastide kasvufaktor 2 (FGF-2), ekspressiooni poolest, kuigi nende tõhusus toitjarakkudena võib erineda sõltuvalt konkreetsest liinist ja kasvatustingimustest.

Võrdlevates uuringutes on inimese eesnaha fibroblastid, nagu HFF-1, eritavad tuvastatavat FGF-2 ja activin A taset, kuigi nende sekretsiooni tase on üldiselt madalam kui hiirte embrüonaalsete fibroblastide puhul täheldatud. HFF-1 rakud ekspresseerivad ka BMP-4 mRNA-d ja valku, kuigi BMP-4 dimeeride sekretsiooni tase on äärmiselt madal ja sageli konditsioneeritud meediumis tuvastamatu, tõenäoliselt rakusisese sekvestratsiooni või gremlini poolt põhjustatud inhibeerimise tõttu. Oluline on, et kasvufaktorite sekretsiooni HFF-1 poolt moduleerib mitootiline inaktiveerimine (nt mitomütsiin C-töötlus) ja meediumi koostis (nt KnockOut-seerumi asendamine vs. veiste loote seerum). HFF-1 rakkude võime toetada diferentseerimata hESC kasvu korreleerub nende aktiiviin A ja TGFβ1 sekretsiooniga, kuigi eksogeense aktiiviin A lisamine võib parandada pluripotentsuse markerite, nagu SSEA3, säilitamist, kui neid rakke kasutatakse söötjana.

Kokkuvõttes on HFF-1 kasulik inimtoidurakkude mudel tüvirakkude kasvatussüsteemides, mille eesmärk on vähendada ksenokomponente. Siiski peetakse nende võimet säilitada pikaajalisi diferentseerimata hESC-kultuure üldiselt vähem tugevaks kui hiirtest saadud toitjarakkude puhul, kui neid ei kombineerita spetsiifiliste kasvufaktorite lisamisega. Nende inimpäritolu muudab need siiski eriti atraktiivseks kliiniliste ja translatsiooniliste tüvirakkude rakenduste jaoks, kus ksenovabad tingimused on olulised.

Organism Inimene

Tissue Eesnahk, nahk

Synonyms HFF1

Omadused

Age <1 kuu

Gender Mees

Morphology Fibroblastide

Cell type Eesnaha fibroblastid

Growth properties Kinnipeetav

HFF-1 rakud | 305790

Regulatiivsed andmed

Citation	HFF-1 (Cytioni katalooginumber 305790)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3285

Biomolekulaarsed andmed

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

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada keskkonda 15% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüs säilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HFF-1 rakud | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HFF-1 rakud | 305790

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.