

HFF-1-solut | 305790

Yleisiä tietoja

Description

HFF-1 on ihmisen esinahan fibroblastisolulinja, jota käytetään usein syöttökerroksena ihmisen alkion kantasolujen (hESC) ja indusoitujen pluripotenttien kantasolujen (iPSC) viljelyssä. Vastasyntyneen ihokudoksesta peräisin olevat HFF-1-solut tuottavat välttämättömiä solunulkoisen matriksin komponentteja ja erittävät keskeisiä signaalimolekyylejä, jotka edistävät hESC:n kiinnittymistä ja tukevat osittain niiden pluripotenttia tilaa. Näiden fibroblastien ilmentymistä useiden pluripotenssia tukevien kasvutekijöiden, kuten TGFβ1:n, aktiviini A:n ja fibroblastikasvutekijä 2:n (FGF-2), osalta on arvioitu, vaikka niiden tehokkuus syöttösoluina voi vaihdella riippuen tietystä linjasta ja viljelyolosuhteista.

Vertailevissa tutkimuksissa ihmisen esinahan fibroblastit, kuten HFF-1, erittävät havaittavissa olevia määriä FGF-2:ta ja aktiviini A:ta, vaikka niiden erityistasot ovat yleensä alhaisemmat kuin hiiren alkion fibroblasteissa havaitut tasot. HFF-1-solut ilmentävät myös BMP-4:n mRNA:ta ja proteiinia, vaikka BMP-4-dimeerien erityistasot ovat erittäin alhaiset ja usein havaitsematta ehdollistetussa väliaineessa, mikä johtuu todennäköisesti solunsisäisestä sekvestraatiosta tai gremlinin aiheuttamasta inhibitiosta. Tärkeää on, että HFF-1:n kasvutekijöiden eritystä säätelevät mitoottinen inaktivointi (esim. mitomysiini C -käsittely) ja väliaineen koostumus (esim. KnockOut-seerumin korvaaminen vs. naudan sikiöseerumi). HFF-1-solujen kyky tukea erilaistumatonta hESC-kasvua korreloi niiden erittämän aktiviini A:n ja TGFβ1:n kanssa, vaikkakin eksogeenisen aktiviini A:n lisääminen voi parantaa pluripotenttimarkkereiden, kuten SSEA3:n, säilymistä, kun näitä soluja käytetään syöttäjinä.

Kaiken kaikkiaan HFF-1 toimii hyödyllisenä ihmisestä peräisin olevana syöttösolumallina kantasoluviljelyjärjestelmissä, joilla pyritään vähentämään ksenokomponentteja. Niiden kykyä ylläpitää pitkäkestoisia erilaistumattomia hESC-viljelmiä pidetään kuitenkin yleisesti ottaen heikompana kuin hiirestä peräisin olevien syöttösolujen kykyä ylläpitää pitkäkestoisia erilaistumattomia hESC-viljelmiä, ellei niitä yhdistetä erityiseen kasvutekijöiden lisäämiseen. Ihmisperäisyys tekee niistä kuitenkin erityisen houkuttelevia kliinisisissä ja translaatiotutkimukseen liittyvissä kantasolusovelluksissa, joissa ksenovapaat olosuhteet ovat välttämättömät.

Organism Ihminen

Tissue Esinahka, iho

Synonyms HFF1

Ominaisuudet

Age <1 kuukausi

Gender Mies

Morphology Fibroblastit

Cell type Esinahan fibroblastit

HFF-1-solut | 305790

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	HFF-1 (Cytionin luettelonumero 305790)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_3285
-----------------------------	-----------

Biomolekyyli tiedot

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

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Täydennetään elatusainetta 15 %:lla FBS:llä
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
----------------------	---------------------

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.
----------------------	---

HFF-1-solut | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HFF-1-solut | 305790

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.