

Cellule HFF-1 | 305790

Informazioni generali

Description

HFF-1 è una linea cellulare di fibroblasti del prepuzio umano frequentemente utilizzata come strato di alimentazione per la coltura di cellule staminali embrionali umane (hESC) e cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC). Derivate dal tessuto dermico neonatale, le cellule HFF-1 forniscono componenti essenziali della matrice extracellulare e secernono molecole di segnalazione chiave che promuovono l'attaccamento delle hESC e sostengono parzialmente il loro stato pluripotente. Questi fibroblasti sono stati valutati per la loro espressione di diversi fattori di crescita che supportano la pluripotenza, tra cui TGF β 1, attivina A e fattore di crescita dei fibroblasti 2 (FGF-2), anche se la loro efficacia come cellule feeder può variare a seconda della linea specifica e delle condizioni di coltura.

In studi comparativi, i fibroblasti del prepuzio umano come HFF-1 secernono livelli rilevabili di FGF-2 e attivina A, sebbene i loro livelli di secrezione siano generalmente inferiori a quelli osservati nei fibroblasti embrionali di topo. Le cellule HFF-1 esprimono anche l'mRNA e la proteina della BMP-4, sebbene i livelli secreti di dimeri di BMP-4 siano estremamente bassi e spesso non rilevabili nel mezzo condizionato, probabilmente a causa del sequestro intracellulare o dell'inibizione da parte della gremlin. È importante notare che la secrezione di fattori di crescita da parte delle HFF-1 è modulata dall'inattivazione mitotica (ad esempio, trattamento con mitomicina C) e dalla composizione del terreno di coltura (ad esempio, sostituzione del siero KnockOut rispetto al siero fetale bovino). La capacità delle cellule HFF-1 di sostenere la crescita di hESC indifferenziate è correlata alla loro secrezione di attivina A e TGF β 1, anche se l'integrazione con attivina A esogena può migliorare il mantenimento di marcatori di pluripotenza come SSEA3 quando queste cellule sono utilizzate come alimentatori.

Nel complesso, le HFF-1 sono un utile modello di cellule alimentatrici di derivazione umana per i sistemi di coltura di cellule staminali che mirano a ridurre gli xeno-componenti. Tuttavia, la loro capacità di mantenere a lungo termine colture di hESC indifferenziate è generalmente considerata meno robusta di quella delle cellule feeder di derivazione murina, a meno che non venga combinata con una specifica integrazione di fattori di crescita. La loro origine umana, tuttavia, le rende particolarmente interessanti per le applicazioni cliniche e traslazionali delle cellule staminali in cui sono essenziali condizioni di assenza di xeno.

Organism Umano

Tissue Prepuzio, pelle

Synonyms HFF1

Caratteristiche

Age <1 mese

Gender Uomo

Morphology Fibroblasti

Cell type Fibroblasti del prepuzio

Cellule HFF-1 | 305790

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation HFF-1 (catalogo Cytion numero 305790)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3285

Dati biomolecolari

Mutational profile

Manipolazione

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 15% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule HFF-1 | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule HFF-1 | 305790

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.