

HFF-1 ląstelės | 305790

Bendra informacija

Description

HFF-1 yra žmogaus apyvarpės fibroblastų ląstelių linija, dažnai naudojama kaip maitinamasis sluoksnis žmogaus embrioninėms kamieninėms ląstelėms (hESC) ir indukuotoms pluripotentinėms kamieninėms ląstelėms (iPSC) auginti. HFF-1 ląstelės, gautos iš naujagimių odos audinio, aprūpina pagrindiniais ekstraląstelinio matrikso komponentais ir išskiria pagrindines signalines molekules, kurios skatina hESC prisitvirtinimą ir iš dalies palaiko jų pluripotentinę būseną. Šių fibroblastų raiška buvo įvertinta dėl kelių pluripotenciją palaikančių augimo veiksnių, įskaitant TGFβ1, aktyviną A ir fibroblastų augimo veiksnį 2 (FGF-2), nors jų, kaip maitinamųjų ląstelių, efektyvumas gali skirtis priklausomai nuo konkrečios linijos ir auginimo sąlygų.

Atliekant lyginamuosius tyrimus, žmogaus apyvarpės fibroblastai, tokie kaip HFF-1, išskiria aptinkamus FGF-2 ir aktyvino A kiekius, nors jų sekrecijos lygis paprastai yra mažesnis nei pelių embrioninių fibroblastų. HFF-1 ląstelės taip pat ekspresuoja BMP-4 mRNA ir baltymą, nors BMP-4 dimerų sekrecijos lygis yra labai žemas ir dažnai neaptinkamas kondicionuojamoje terpėje, greičiausiai dėl viduląstelinės sekvestracijos arba slopinimo gremlinu. Svarbu tai, kad HFF-1 augimo veiksnių sekreciją keičia mitozinis inaktyvinimas (pvz., gydymas mitomicinu C) ir terpės sudėtis (pvz., "KnockOut Serum Replacement" ir fetalinis galvijų serumas). HFF-1 ląstelių gebėjimas palaikyti nediferencijuotą hESC augimą koreliuoja su jų išskiriamu aktyviniu A ir TGFβ1, nors papildymas egzogeniniu aktyviniu A gali pagerinti pluripotencijos žymenų, tokių kaip SSEA3, palaikymą, kai šios ląstelės naudojamos kaip maitintojos.

Apskritai HFF-1 yra naudingas žmogaus kilmės maitinamųjų ląstelių modelis kamieninių ląstelių kultūrų sistemoms, kuriomis siekiama sumažinti ksenokomponentų kiekį. Tačiau jų gebėjimas palaikyti ilgalaikes nediferencijuotas hESC kultūras paprastai laikomas mažiau patikimu nei pelių kilmės maitinamųjų ląstelių, nebent jos būtų papildytos specifiniais augimo veiksniais. Tačiau dėl jų žmogiškosios kilmės jos tampa ypač patrauklios klinikinėms ir transliacinėms kamieninių ląstelių programoms, kuriose būtina užtikrinti sąlygas be ksenogenų.

Organism Žmogus

Tissue Apyvarpė, oda

Synonyms HFF1

Charakteristikos

Age <1 mėnuo

Gender Vyras

Morphology Fibroblastai

Cell type Apyvarpės fibroblastai

HFF-1 ląstelės | 305790

Growth properties Priglundės

Reguliavimo duomenys

Citation HFF-1 (Cytion katalogo numeris 305790)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3285

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 15 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HFF-1 ląstelės | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HFF-1 ląstelės | 305790

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.