

HFF-1 šūnas | 305790

Vispārīga informācija

Description

HFF-1 ir cilvēka priekšādas fibroblastu šūnu līnija, ko bieži izmanto kā barojošo slāni cilvēka embrionālo cilmes šūnu (hESC) un inducēto pluripotentu cilmes šūnu (iPSC) kultivēšanai. HFF-1 šūnas, kas iegūtas no jaundzimušo ādas audiem, nodrošina būtiskus ekstracelulārā matricas komponentus un izdala galvenās signālu molekulas, kas veicina hESC piestiprināšanos un daļēji atbalsta to pluripotentu stāvokli. Šiem fibroblastiem ir novērtēta vairāku pluripotenci atbalstošu augšanas faktoru, tostarp TGFβ1, aktivīna A un fibroblastu augšanas faktora 2 (FGF-2), ekspresija, lai gan to kā barotājšūnu efektivitāte var atšķirties atkarībā no konkrētās līnijas un kultūras apstākļiem.

Salīdzinošos pētījumos konstatēts, ka cilvēka priekšādas fibroblasti, piemēram, HFF-1, izdala konstatējamu FGF-2 un A aktivīna līmeni, lai gan to izdalīšanās līmenis parasti ir zemāks nekā peļu embrionālajiem fibroblastiem. HFF-1 šūnas arī ekspresē BMP-4 mRNS un proteīnu, lai gan BMP-4 dimēru izdalītais līmenis ir ļoti zems un bieži vien nav nosakāms kondicionētajā barotnē, iespējams, sakarā ar intracelulāro sekvestrāciju vai inhibīciju ar gremlīnu. Svarīgi, ka HFF-1 augšanas faktoru sekrēciju modulē mitotiskā inaktivācija (piemēram, ārstēšana ar mitomicīnu C) un barotnes sastāvs (piemēram, KnockOut seruma aizstājējs pret fetālo liellopu serumu). HFF-1 šūnu spēja uzturēt nediferencētu hESC augšanu korelē ar to izdalīto aktīnu A un TGFβ1, lai gan, izmantojot šīs šūnas kā barotavas, papildināšana ar eksogēnu aktīnu A var uzlabot pluripotences marķieru, piemēram, SSEA3, saglabāšanu.

Kopumā HFF-1 kalpo kā noderīgs cilvēka izcelsmes barojošo šūnu modelis cilmes šūnu kultūru sistēmām, kuru mērķis ir samazināt ksenokomponentu daudzumu. Tomēr to spēja ilgstoši uzturēt nediferencētas hESC kultūras parasti tiek uzskatīta par mazāk stabilu nekā peļu izcelsmes barotājšūnu spēja, ja vien tās netiek kombinētas ar specifisku augšanas faktoru papildināšanu. Tomēr to cilvēciskā izcelsme padara tās īpaši pievilcīgas klīniskajiem un translatoģiskajiem cilmes šūnu lietojumiem, kur ir svarīgi apstākļi bez ksenogēniem.

Organism Cilvēks

Tissue Apakšāda, āda

Synonyms HFF1

Raksturojums

Age <1 mēnesis

Gender Vīrieši

Morphology Fibroblasti

Cell type Apakšādas fibroblasti

Growth properties Adherent

HFF-1 šūnas | 305790

Normatīvie dati

Citation	HFF-1 (Cytion kataloga numurs 305790)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3285

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 15% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HFF-1 šūnas | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HFF-1 šūnas | 305790

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.