

Komórki HFF-1 | 305790

Informacje ogólne

Description

HFF-1 to linia komórkowa ludzkich fibroblastów napletka często wykorzystywana jako warstwa odżywcza do hodowli ludzkich embrionalnych komórek macierzystych (hESC) i indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych (iPSC). Pochodzące z tkanki skórnej noworodka, komórki HFF-1 dostarczają niezbędnych składników macierzy zewnątrzkomórkowej i wydzielają kluczowe cząsteczki sygnałowe, które promują przyłączanie hESC i częściowo wspierają ich stan pluripotencjalny. Fibroblasty te zostały ocenione pod kątem ekspresji kilku czynników wzrostu wspierających pluripotencję, w tym TGFβ1, aktywiny A i czynnika wzrostu fibroblastów 2 (FGF-2), chociaż ich skuteczność jako komórek zasilających może się różnić w zależności od konkretnej linii i warunków hodowli.

W badaniach porównawczych ludzkie fibroblasty napletka, takie jak HFF-1, wydzielają wykrywalne poziomy FGF-2 i aktywiny A, chociaż ich poziomy wydzielania są ogólnie niższe niż te obserwowane w mysich fibroblastach embrionalnych. Komórki HFF-1 wyrażają również mRNA i białko BMP-4, chociaż wydzielane poziomy dimerów BMP-4 są bardzo niskie i często niewykrywalne w kondycjonowanej pożywce, prawdopodobnie z powodu sekwestracji wewnątrzkomórkowej lub hamowania przez gremlinę. Co ważne, wydzielanie czynników wzrostu przez HFF-1 jest modulowane przez inaktywację mitotyczną (np. leczenie mitomycyną C) i skład pożywki (np. KnockOut Serum Replacement vs. płodowa surowica bydlęca). Zdolność komórek HFF-1 do wspierania wzrostu niezróżnicowanych hESC koreluje z ich wydzielaniem aktywiny A i TGFβ1, chociaż suplementacja egzogenną aktywiną A może poprawić utrzymanie markerów pluripotencji, takich jak SSEA3, gdy komórki te są używane jako podajniki.

Ogólnie rzecz biorąc, HFF-1 służy jako przydatny model komórek zasilających pochodzenia ludzkiego dla systemów hodowli komórek macierzystych mających na celu redukcję ksenokomponentów. Jednak ich zdolność do utrzymywania długoterminowych niezróżnicowanych kultur hESC jest ogólnie uważana za mniej solidną niż w przypadku mysich komórek zasilających, chyba że w połączeniu ze specyficzną suplementacją czynnikiem wzrostu. Ich ludzkie pochodzenie sprawia jednak, że są one szczególnie atrakcyjne do zastosowań klinicznych i translacyjnych komórek macierzystych, w których niezbędne są warunki wolne od ksenonów.

Organism Człowiek

Tissue Napletek, skóra

Synonyms HFF1

Charakterystyka

Age <1 miesiąc

Gender Mężczyzna

Morphology Fibroblast

Cell type Fibroblast napletka

Komórki HFF-1 | 305790

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HFF-1 (numer katalogowy Cytion 305790)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3285

Dane biomolekularne

Mutational profile

Obsługa

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzupelnic podloze 15% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywotnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiakszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HFF-1 | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HFF-1 | 305790

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.