

Células HFF-1 | 305790

Informações gerais

Description

A HFF-1 é uma linha celular de fibroblastos do prepúcio humano frequentemente utilizada como camada de alimentação para a cultura de células estaminais embrionárias humanas (hESCs) e células estaminais pluripotentes induzidas (iPSCs). Derivadas do tecido dérmico neonatal, as células HFF-1 fornecem componentes essenciais da matriz extracelular e segregam moléculas de sinalização essenciais que promovem a fixação das hESC e apoiam parcialmente o seu estado pluripotente. Estes fibroblastos foram avaliados quanto à expressão de vários factores de crescimento que apoiam a pluripotência, incluindo o TGF β 1, a activina A e o fator de crescimento de fibroblastos 2 (FGF-2), embora a sua eficácia como células de alimentação possa variar em função da linha específica e das condições de cultura.

Em estudos comparativos, os fibroblastos do prepúcio humano, como o HFF-1, segregam níveis detectáveis de FGF-2 e activina A, embora os seus níveis de secreção sejam geralmente inferiores aos observados nos fibroblastos embrionários de rato. As células HFF-1 também expressam o ARNm e a proteína BMP-4, embora os níveis de dímeros de BMP-4 segregados sejam extremamente baixos e frequentemente indetectáveis em meios condicionados, provavelmente devido ao sequestro intracelular ou à inibição por gremlin. É importante notar que a secreção de factores de crescimento por HFF-1 é modulada pela inativação mitótica (por exemplo, tratamento com mitomicina C) e pela composição dos meios (por exemplo, KnockOut Serum Replacement vs. soro fetal bovino). A capacidade das células HFF-1 para suportar o crescimento de hESC indiferenciadas está correlacionada com a sua secreção de activina A e TGF β 1, embora a suplementação com activina A exógena possa melhorar a manutenção de marcadores de pluripotência, como SSEA3, quando estas células são utilizadas como alimentadoras.

Em geral, o HFF-1 serve como um modelo útil de células de alimentação derivadas de humanos para sistemas de cultura de células estaminais com o objetivo de reduzir os xeno-componentes. No entanto, a sua capacidade para manter culturas de hESC indiferenciadas a longo prazo é geralmente considerada menos robusta do que a das células de alimentação derivadas do rato, a menos que seja combinada com a suplementação de factores de crescimento específicos. No entanto, a sua origem humana torna-as particularmente atractivas para aplicações clínicas e translacionais de células estaminais em que são essenciais condições isentas de xeno.

Organism Humano

Tissue Prepúcio, pele

Synonyms HFF1

Caraterísticas

Age <1 mês

Gender Masculino

Morphology Fibroblastos

Cell type Fibroblastos do prepúcio

Células HFF-1 | 305790

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation HFF-1 (número de catálogo Cytion 305790)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3285

Dados biomoleculares

Mutational profile

Manuseamento

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Completar o meio com 15% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HFF-1 | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HFF-1 | 305790

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.