

Celule HFF-1 | 305790

Informații generale

Description

HFF-1 este o linie celulară de fibroblast de prepuț uman utilizată frecvent ca strat de hrănire pentru cultivarea celulelor stem embrionare umane (hESC) și a celulelor stem pluripotente induse (iPSC). Derivate din țesutul dermic neonatal, celulele HFF-1 furnizează componente esențiale ale matricei extracelulare și secretă molecule-cheie de semnalizare care promovează atașarea hESC și susțin parțial starea lor pluripotentă. Aceste fibroblaste au fost evaluate pentru expresia mai multor factori de creștere care susțin pluripotența, inclusiv TGFβ1, activina A și factorul de creștere a fibroblastelor 2 (FGF-2), deși eficacitatea lor ca celule de hrănire poate varia în funcție de linia specifică și de condițiile de cultură.

În studiile comparative, fibroblastele de prepuț uman precum HFF-1 secretă niveluri detectabile de FGF-2 și activină A, deși nivelurile lor de secreție sunt în general mai scăzute decât cele observate în fibroblastele embrionare de șoarece. Celulele HFF-1 exprimă, de asemenea, ARNm și proteina BMP-4, deși nivelurile secretate de dimeri BMP-4 sunt extrem de scăzute și adesea nedetectabile în mediul condiționat, probabil din cauza sechestrării intracelulare sau a inhibării de către gremlin. În mod important, secreția de factori de creștere de către HFF-1 este modulată de inactivarea mitotică (de exemplu, tratamentul cu mitomicină C) și de compoziția mediului (de exemplu, KnockOut Serum Replacement vs. ser fetal bovin). Capacitatea celulelor HFF-1 de a susține creșterea hESC nediferențiate se corelează cu secreția lor de activină A și TGFβ1, deși suplimentarea cu activină A exogenă poate îmbunătăți menținerea markerilor de pluripotență, cum ar fi SSEA3, atunci când aceste celule sunt utilizate ca alimentatoare.

În general, HFF-1 servește drept un model util de celule hrănitore de origine umană pentru sistemele de cultură a celulelor stem care vizează reducerea xeno-componentelor. Cu toate acestea, capacitatea lor de a menține pe termen lung culturi de hESC nediferențiate este, în general, considerată mai puțin robustă decât cea a celulelor de hrănire derivate din șoareci, cu excepția cazului în care sunt combinate cu suplimentarea cu factori de creștere specifici. Cu toate acestea, originea lor umană le face deosebit de atractive pentru aplicațiile clinice și translaționale cu celule stem în care condițiile fără xeno sunt esențiale.

Organism Om

Tissue Prepuț, piele

Synonyms HFF1

Caracteristici

Age <1 lună

Gender Masculin

Morphology Fibroblast

Cell type Fibroblast de prepuț

Celule HFF-1 | 305790

Growth properties	Aderent
--------------------------	---------

Date de reglementare

Citation	HFF-1 (număr de catalog Cytion 305790)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_3285
-----------------------------	-----------

Date biomoleculare

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

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Suplimentați mediul cu 15% FBS
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
----------------------	---------------------------------

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
----------------------	---

Celule HFF-1 | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HFF-1 | 305790

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.