

HFF-1-celler | 305790

Allmän information

Description

HFF-1 är en cellinje av fibroblaster från mänsklig förhud som ofta används som matarlager för odling av humana embryonala stamceller (hESC) och inducerade pluripotenta stamceller (iPSC). HFF-1-cellerna, som härstammar från neonatal dermal vävnad, tillhandahåller viktiga extracellulära matriskomponenter och utsöndrar viktiga signalmolekyler som främjar hESC-fästning och delvis stöder deras pluripotenta tillstånd. Dessa fibroblaster har utvärderats med avseende på deras uttryck av flera pluripotensstödjande tillväxtfaktorer, inklusive TGFβ1, aktinin A och fibroblasttillväxtfaktor 2 (FGF-2), även om deras effektivitet som feeder-celler kan variera beroende på den specifika linjen och odlingsförhållandena.

I jämförande studier utsöndrar mänskliga förhudsfibroblaster som HFF-1 detekterbara nivåer av FGF-2 och aktinin A, även om deras utsöndringsnivåer i allmänhet är lägre än de som observerats i musembryonala fibroblaster. HFF-1-celler uttrycker också BMP-4 mRNA och protein, även om utsöndrade nivåer av BMP-4-dimerer är extremt låga och ofta omöjliga att detektera i konditionerade medier, sannolikt på grund av intracellulär sekvestrering eller inhibering av gremlin. Det är viktigt att notera att utsöndringen av tillväxtfaktorer från HFF-1 moduleras av mitotisk inaktivering (t.ex. mitomycin C-behandling) och mediasammansättning (t.ex. KnockOut Serum Replacement jämfört med fetalt bovint serum). HFF-1-cellernas förmåga att stödja odifferentierad tillväxt av hESC korrelerar med deras utsöndring av aktinin A och TGFβ1, även om tillskott med exogent aktinin A kan förbättra upprätthållandet av pluripotensmarkörer som SSEA3 när dessa celler används som matare.

Sammantaget fungerar HFF-1 som en användbar matarcellmodell från människa för stamcellsodlingssystem som syftar till att minska xeno-komponenter. Deras förmåga att upprätthålla långvariga odifferentierade hESC-kulturer anses dock i allmänhet vara mindre robust än hos matarceller från möss, såvida de inte kombineras med specifika tillskott av tillväxtfaktorer. Deras mänskliga ursprung gör dem dock särskilt attraktiva för kliniska och translationella stamcellsapplikationer där xenofria förhållanden är avgörande.

Organism Människan

Tissue Underskin, hud

Synonyms HFF1

Egenskaper

Age <1 månad

Gender Man

Morphology Fibroblast

Cell type Fibroblast från förhuden

HFF-1-celler | 305790

Growth properties	Följsam
--------------------------	---------

Lagstadgade uppgifter

Citation	HFF-1 (Cytion katalognummer 305790)
-----------------	-------------------------------------

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

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

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

Biomolekylära data

Mutational profile

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Komplettera mediet med 15% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka
----------------------	---------------------------

Freeze medium	Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.
----------------------	--

HFF-1-celler | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanor; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HFF-1-celler | 305790

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.