

**Bunky HFF-1 | 305790****Všeobecné informácie****Description**

HFF-1 je línia ľudských fibroblastov predkožky, ktorá sa často používa ako napájacia vrstva na kultiváciu ľudských embryonálnych kmeňových buniek (hESC) a indukovaných pluripotentných kmeňových buniek (iPSC). Bunky HFF-1 pochádzajúce z novorodeneckého kožného tkaniva poskytujú základné zložky extracelulárnej matrice a vylučujú kľúčové signálne molekuly, ktoré podporujú prichytenie hESC a čiastočne podporujú ich pluripotentný stav. Tieto fibroblasty boli hodnotené z hľadiska expície niekoľkých rastových faktorov podporujúcich pluripotenciu vrátane TGFβ1, aktívnu A a fibroblastového rastového faktora 2 (FGF-2), hoci ich účinnosť ako napájacích buniek sa môže líšiť v závislosti od konkrétnej línie a podmienok kultivácie.

V porovnávacích štúdiách ľudské fibroblasty predkožky, ako napríklad HFF-1, vylučujú detekovateľné hladiny FGF-2 a aktívnu A, hoci ich hladiny sekrécie sú vo všeobecnosti nižšie ako hladiny pozorované u myších embryonálnych fibroblastov. Bunky HFF-1 tiež exprimujú mRNA a proteín BMP-4, hoci vylučované hladiny dimérov BMP-4 sú extrémne nízke a často nedetekovateľné v kondicionovanom médiu, pravdepodobne v dôsledku intracelulárnej sekvestrácie alebo inhibície gremlínom. Dôležité je, že sekrécia rastových faktorov HFF-1 je modulovaná mitotickou inaktiviáciou (napr. liečba mitomycínom C) a zložením média (napr. náhrada KnockOut séra vs. fetálne hovädzie sérum). Schopnosť buniek HFF-1 podporovať rast nediferencovaných hESC koreluje s ich sekréciou aktívnu A a TGFβ1, hoci doplnenie exogénneho aktívnu A môže zlepšiť zachovanie markerov pluripotencie, ako je SSEA3, keď sa tieto bunky používajú ako krmidlá.

Celkovo HFF-1 slúži ako užitočný model krmných buniek odvodených od človeka pre systémy kultivácie kmeňových buniek, ktorých cieľom je znížiť množstvo xeno-komponentov. Ich schopnosť udržiavať dlhodobé nediferencované kultúry hESC sa však vo všeobecnosti považuje za menej robustnú ako schopnosť krmných buniek odvodených od myší, pokiaľ sa nekombinuje so špecifickou suplementáciou rastovými faktormi. Ich ľudský pôvod ich však robí obzvlášť atraktívnymi pre klinické a translačné aplikácie kmeňových buniek, kde sú nevyhnutné podmienky bez xenónov.

**Organism**      Ľudské**Tissue**              Predkožka, koža**Synonyms**        HFF1**Charakteristika****Age**                      <1 mesiac**Gender**                Muži**Morphology**        Fibroblasty**Cell type**            Fibroblast predkožky

**Bunky HFF-1 | 305790**

**Growth properties** Adherent

**Regulačné údaje**

**Citation** HFF-1 (katalógové číslo Cytion 305790)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_3285

**Biomolekulárne údaje**

**Mutational profile**

**Spracovanie**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

**Supplements** Doplňte médium o 15 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

## Bunky HFF-1 | 305790

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky HFF-1 | 305790

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.