

Celice HFF-1 | 305790

Splošne informacije

Description

HFF-1 je celična linija fibroblastov človeške presredka, ki se pogosto uporablja kot hranilna plast za gojenje človeških embrionalnih matičnih celic (hESC) in induciranih pluripotentnih matičnih celic (iPSC). Celice HFF-1, pridobljene iz kožnega tkiva novorojenčka, zagotavljajo bistvene sestavine zunajceličnega matriksa in izločajo ključne signalne molekule, ki spodbujajo pritrđitev hESC in delno podpirajo njihovo pluripotentno stanje. Ti fibroblasti so bili ocenjeni glede izražanja več rastnih dejavnikov, ki podpirajo pluripotentnost, vključno s TGF β 1, aktivinom A in fibroblastnim rastnim dejavnikom 2 (FGF-2), čeprav se njihova učinkovitost kot napajalnih celic lahko razlikuje glede na določeno linijo in pogoje gojenja.

V primerjalnih študijah človeški fibroblasti predkoške, kot je HFF-1, izločajo zaznavne ravni FGF-2 in aktivina A, čeprav so njihove ravni izločanja na splošno nižje od tistih, opaženih pri mišjih embrionalnih fibroblastih. Celice HFF-1 izražajo tudi mRNA in beljakovine BMP-4, čeprav so izločene ravni dimerov BMP-4 izredno nizke in jih pogosto ni mogoče zaznati v pogojnem mediju, verjetno zaradi znotrajcelične sekvestracije ali inhibicije z gremlinom. Pomembno je, da se izločanje rastnih dejavnikov pri HFF-1 modulira z mitotično inaktivacijo (npr. zdravljenje z mitomicinom C) in sestavo medija (npr. nadomestek KnockOut Serum v primerjavi s fetalnim govejim serumom). Sposobnost celic HFF-1, da podpirajo nediferencirano rast hESC, je povezana z njihovim izločanjem aktivina A in TGF β 1, čeprav lahko dopolnjevanje z eksogenim aktivinom A izboljša ohranjanje označevalcev pluripotentnosti, kot je SSEA3, kadar se te celice uporabljajo kot hranilniki.

Na splošno HFF-1 služi kot uporaben model človeških celic za hranjenje za sisteme za gojenje matičnih celic, katerih cilj je zmanjšati količino ksenokomponent. Vendar pa njihova sposobnost vzdrževanja dolgoročnih nediferenciranih kultur hESC na splošno velja za manj zanesljivo kot pri hranilnih celicah mišjega izvora, razen v kombinaciji z dodatkom posebnih rastnih dejavnikov. Zaradi človeškega izvora pa so še posebej privlačne za klinične in translacijske aplikacije matičnih celic, kjer so pogoji brez ksenoogenih snovi ključnega pomena.

Organism Človek

Tissue Predkoška, koža

Synonyms HFF1

Značilnosti

Age <1 mesec

Gender Moški

Morphology Fibroblast

Cell type Fibroblast presredka

Growth properties Pripadajoče

Celice HFF-1 | 305790

Regulativni podatki

Citation	HFF-1 (katalogška številka Cytion 305790)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3285

Biomolekularni podatki

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite s 15 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice HFF-1 | 305790

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice HFF-1 | 305790

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.