

BJ fibroblastide rakud | 305222

Üldine teave

Description

BJ rakud, mis on saadud vastsündinud meeste eesnahast, on inimese fibroblastid, mis on sidekoes leiduv rakutüüp. Neid kasutatakse sageli bioloogilistes ja meditsiinilistes uuringutes nende paljunemisvõime ja inimpäritolu tõttu, mistõttu on nad olulised inimese bioloogia ja haiguste uurimisel.

BJ rakke, mis on saadud inimese naha fibroblastidest, kasutatakse peamiselt uuringutes, mis on seotud rakkude reageerimisega oksüdatiivsele stressile, aidates kaasa vananemise, haiguste mehhanismide ja rakkude kaitsevõime mõistmisele oksüdatiivse kahjustuse vastu. Need rakud on ka elujõuline alternatiiv hiire BALB/c 3T3 rakkudele in vitro toksikoloogilistes hindamistes, eelkõige neutraalse punase aine omastamise (NRU) katses. Seda analüüsi kasutatakse laialdaselt tsütotoksiliste mõjude hindamiseks, mõõtes rakkude elujõulisust neutraalse punase värvaine omastamise kaudu.

Inimese eesnaha fibroblastide BJ tugev telomeraasi aktiivsuse puudumine, mis ei sõltu hTERT-st, rõhutab nende rolli enneaegse vananemise, telomeeride pikenemise ja hüperoksia mõju telomeeride pikkusele uurimisel. Inimese rakuliine BJ ja HaCaT kasutatakse dermatoloogilistes uuringutes sageli koos, kuna need täiendavad üksteist naha füsioloogia põhiaspektide esindamisel. HaCaT rakud, mis on inimese keratinotsüüdid, on naha epidermise kihi mudeliks, samas kui BJ rakud, mis on saadud inimese fibroblastidest, esindavad nahakihti. Selline kombinatsioon võimaldab uurida naha reaktsioone nii epidermise kui ka naha tasandil, mis muudab need rakud hindamatuks naha vananemise, haavade paranemise ja erinevate ravimeetodite mõju uurimisel naha tervisele.

Kokkuvõttes on BJ rakud, mida tuntakse ka inimese BJ fibroblastidena, bioloogilistes uuringutes mitmekülgne mudel, mis annab ülevaate keskkonnakoormuse, rakkude vananemise ja radikaalide bioloogia mõjust.

Organism Inimene

Tissue Eesnahk

Synonyms FF-WT-BJ, BJ1

Omadused

Age Vähem kui 1 kuu

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Fibroblastide

Cell type Eesnaha fibroblastid

BJ fibroblastide rakud | 305222

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation BJ (Cytioni katalooginumber 305222)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3653

Biomolekulaarsed andmed

Karyotype BJ rakud säilitavad normaalse diploidse kariotüübi. Pärast teatud populatsiooni kahekordistumist võib siiski ilmned geneetilistele muutustele viitav ebanormaalne kariotüüp.

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS, 20 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

BJ fibroblastide rakud | 305222**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

BJ fibroblastide rakud | 305222

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.