

HEL 92.1.7 Rakud | 300462

Üldine teave

Description

HEL 92.1.7 rakuliinil on võime spontaanselt diferentseeruda erütroblastide sarnasteks rakkudeks, jäljendades mõningaid aspekte erütroidide küpsemisest in vitro. See omadus muudab need eriti kasulikuks erütroidse diferentseerumise protsessi ja erütropoeesiga seotud geeniekspressiooni reguleerimise uurimiseks. Nende võime spontaanselt diferentseeruda annab ainulaadse eelise erütroidsete eellaste küpsemist juhtivate sisemiste radade ja mehhanismide uurimiseks ilma väliste diferentseerumist esilekutsuvate ainete lisamiseta.

Lisaks sellele saab HEL 92.1.7 rakkude diferentseerumist täiendavalt manipuleerida forbolestriite, nagu TPA (12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate) ja PMA (phorbol myristic acid) lisamisega, mis teadaolevalt indutseerivad makrofaagilaadset diferentseerumist. Selline indutseeritud diferentseerumine makrofaagilaadseks rakuks laiendab HEL 92.1.7 rakuliini kasutusvõimalusi lisaks erütroidi uuringutele, võimaldades teadlastel uurida ja mõista vereloome rakkude plastilisust ja tingimusi, mille korral saab liinide sidumist ja rakuidentiteeti ümber suunata. Sellised uuringud on olulised terapeutiliste strateegiate väljatöötamiseks, mille eesmärk on manipuleerida rakkude saatust regeneratiivse meditsiini ja vähiravi eesmärgil.

Organism

Inimene

Tissue

Luuüdi

Disease

Erütroleukeemia

Synonyms

HEL92.1.7, HEL-92.1.7, HEL-92-1-7, HEL-92_1_7, HEL-92, HEL-92, HEL92

Omadused

Age

30 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Ümmargused rakud

Cell type

Erütroblast

Growth properties

Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation

HEL 92.1.7 (Cytioni katalooginumber 300462)

HEL 92.1.7 Rakud | 300462

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2481

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression HLA A3, Aw32, Bw35, Ia+

Products Hemoglobiin, globiin (G-gamma-, A-gamma-, epsilon-, zeta- ja alfaahelad), beeta-2-mikroglobuliin, glükofooriin

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifuugige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifuugimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

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.

HEL 92.1.7 Rakud | 300462

**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 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °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 vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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°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 °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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HEL 92.1.7 Rakud | 300462**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 ja molekulaaranalüüs**Sterility**

Mükoplasmaakontaminatsioon 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.

HLA alleles

A*: '03:01:01, '32:01:01

B*: '35:01:01, '35:08:01

C*: '04:01:01

DRB1*: '07:01:01, '13:03:01

DQA1*: '02:01:01, '05:05:01

DQB1*: '02:02:01, '03:01:01

DPB1*: '02:01:02, '04:01:01

E: '01:01:01, '01:03:02