

Farage'i rakud | 305071

Üldine teave

Description

Farage'i rakuliin pärineb B-lümfotsüütidest, mis on saadud täiskasvanud naiselt, kellel on diagnoositud mitte-Hodgkini B-rakkude lümfoom. See rakuliin on eriti väärtuslik immunoloogilistes uuringutes tänu oma ainulaadsetele omadustele ja reaktsioonidele erinevatele stiimulitele. Farage'i rakud kasvavad suspensioonis ja on märkimisväärsed selle poolest, et nad ei ekspresseeri pinna- või tsütoplasmaimmuunglobuliine, mis rõhutab nende kasulikkust immuunvastusele keskendunud uuringutes ilma nende valkude sekkumiseta.

Kui Farage'i rakke töödeldakse interleukiin-4 (IL-4), suureneb mitme markeri, sealhulgas CD23, CD54 ja CD58 ekspressioon, samal ajal kui CD21, CD22 ja CD38 tase väheneb. Selline pinnamarkerite moduleerimine viitab IL-4 rollile B-rakkude käitumise mõjutamisel ja annab kasuliku mudeli B-rakkude signaaliradade ja regulatiivsete mehhanismide uurimiseks. Lisaks sellele toetab vastus forbool-12-müristaat-13-atsetaat (PMA) ravile, mille tulemuseks on CD21 ja CD23 alareguleerimine, veelgi selle kasutamist B-rakkude kinaasipõhise signaalsiooni uurimisel.

Terminaalse deoksünukleotidültransferaasi (TdT) ja rekombinatsiooni aktiveerivate geenide (RAG-1 ja RAG-2) puudumine Farage'i rakkudes kinnitab nende liigitamist pigem küpseteks B-rakkudeks kui pre-B-rakkudeks. See aspekt on oluline B-rakkude arengu või toimimise küpset faasi käsitlevate uuringute jaoks. Lisaks saab Epstein-Barri viiruse (EBV) olemasolu nendes rakkudes kasutada ära uuringutes, milles uuritakse viiruse ja peremeesraku mehhanismide vastastikmõju, eriti lümfotsüütide onkogeensete protsesside kontekstis.

Organism Inimene

Tissue Lümfisüsteem

Disease Hajus suur B-rakkude lümfoomi idukeskuse B-rakkude tüüp

Metastatic site Lümfisõlm

Synonyms FARAGE, Farage OL, Farage Original Line, Farage Original Line

Omadused

Age 70 aastat

Gender Naised

Ethnicity Euroopa

Morphology Lümfoblastid

Growth properties Peatamine

Farage'i rakud | 305071

Regulatiivsed andmed

Citation	Farage (Cytioni katalooginumber 305071)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3302

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga, lisada 2,5 g/l glükoosi ja 10 mM HEPES
Doubling time	48 tundi
Subculturing	Võib kasvatada kuni 1,5–2 x 10 ⁶ rakku/ml. Homogeniseerige rakuksuspensioon kolvis õrnalt pipettides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värske kasvatuskeskkonda, et saavutada rakkude kontsentratsioon 5 x 10 ⁵ rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.
Seeding density	5 x 10 ⁵ rakku/ml
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.

Farage'i rakud | 305071

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.

Farage'i rakud | 305071

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.