

HMy2.CIR rakud | 305126**Üldine teave****Description**

Rakuliin HMy2.CIR on välja töötatud gammakiirguse ja sellele järgneva selektsiooni abil, et kaotada HLA I klassi antigeeni ekspressioon B-lümfoblastoidide rakuliinist HMy.2. See vanemrakuliin on ARH-77 rakuliinist saadud kiiresti kasvav mutant. HMy2.CIR rakud on eriti väärtuslikud transfekteeritud I klassi peamiste histokompatibility antigeenide peremeesrühmana, pakkudes mitmekülgset platvormi antigeenide esitlemise ja immuunvastuse mehhanismide uurimiseks.

ARH-77 rakuliin, millest HMy2.CIR on lõppkokkuvõttes saadud, on teadaolevalt positiivne Epstein-Barri tuumaantigeeni (EBNA+) ja Epstein-Barri viiruse kapsidi antigeeni (EBVCA+) suhtes. Järelikult eeldatakse, et ka rakuliin HMy2.CIR on EBNA-positiivne. Seda rakuliini iseloomustab HLA Cw4 väikese hulga ekspressioon, kuid see ei ekspresseeri HLA A- või B-lookuse tooteid. See ainulaadne antigeeni ekspressiooniprofiil muudab HMy2.CIR rakud kasulikuks mudeliks immunoloogilistes uuringutes, eriti HLA I klassi piiratud antigeenide töötlemise ja esitlemise uurimisel.

Organism Inimene**Tissue** B-lümfoblast**Synonyms** Hmy.2 CIR, HMy2.CIR, C1R**Omadused****Age** 33 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Lümfoblastid**Growth properties** Peatamine**Regulatiivsed andmed****Citation** HMy2.CIR (Cytioni katalooginumber 305126)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606

HMy2.CIR rakud | 305126

CellosaurusAccession CVCL_3714

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium IMDM, w: 4,5 g/L glükoos, w: 4 mM L-glutamiin, w: 25 mM HEPES, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 3,024 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820800a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Subculturing Homogeniseerige kolvis olev rakususpensioon õrnalt pipeteerides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värske kultuurikeskkonnaga, et saavutada rakkude kontsentratsioon 1×10^5 rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.

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.

HMy2.CIR rakud | 305126**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.

HMy2.CIR rakud | 305126

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.