

HEL rakud | 305022

Üldine teave

Description

HEL-rakud on inimese erütroleukeemia rakuliin, mis loodi 30-aastase erütroleukeemiaga mehe perifeersest verest, kes oli pärast Hodgkini lümfoomi ravi retsidiivis 1980. aastal.

HEL-rakud on võimelised spontaanseks ja indutseeritud globiini sünteesiks, tootes peamiselt G- ja A-gammaahelaid. Need rakud ekspresseerivad ka embrüoahelaid (epsilon, zeta) ja alfaahelaid minimaalses koguses, samas kui beetaahelaid ei ole tuvastatav.

HEL-rakud on ümmargused, suured kuni aeg-ajalt hiiglaslikud polünukleotiividega üksikud rakud suspensioonis, mõned rakud on kleepuvad. Mutatsioonilise JAK2 ekspressiooni on nendes rakkudes kinnitanud RT-PCR ja sekveneerimine. HEL-rakud ekspresseerivad mitmeid rakupinna markereid, sealhulgas CD3-, CD13+, CD14-, CD19-, CD33+, CD41a+, CD71+ ja CD235a+. Uuringute kohaselt võib hüdroksüürea, ravim, mida kasutatakse rutiinselt mitmesuguste vähivormide, sealhulgas erütroleukeemia raviks, reguleerida ka HEL-rakkude surma.

Hüdroksüürea poolt tekitatud HEL-rakkude apoptoos võib olla seotud HEL-rakkude terminaalse diferentseerumisega. Lisaks on varasemad uuringud näidanud, et hüdroksüürea võib olla oluline HEL-rakkude proliferatsiooni ja diferentseerumise kontrollimisel.

Organism Inimene

Tissue Perifeerne veri

Disease Erütroleukeemia

Synonyms Hel, GM06141, GM06141B, inimese erütroleukeemia

Omadused

Age 30 aastat

Gender Mees

Ethnicity Euroopa

Morphology Ümardatud

Growth properties Kinni jääv/suspensioon

Regulatiivsed andmed

HEL rakud | 305022

Citation HEL (Cytioni katalooginumber 305022)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0001

Biomolekulaarsed andmed

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% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 36 tundi

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 tsentrifugeerige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifugeerimist 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 rakud | 305022

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 rakususpensioon 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.

HEL rakud | 305022

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.