

HEL 92.1.7 Solut | 300462

Yleisiä tietoja

Description

HEL 92.1.7 -solulinjalla on kyky erilaistua spontaanisti erytroblastien kaltaisiksi soluiksi, mikä jäljittelee eräitä erytroidien kypsymistä in vitro. Tämä ominaisuus tekee niistä erityisen käyttökelpoisia tutkittaessa erytroidien erilaistumisprosessia ja erytropoieesiin liittyvän geeniekspression säätelyä. Niiden kyky erilaistua spontaanisti tarjoaa ainutlaatuisen edun, kun tutkitaan sisäisiä reittejä ja mekanismeja, jotka ohjaavat erytroidean esiasteiden kypsymistä ilman ulkoisia erilaistumista indusoivia aineita.

Lisäksi HEL 92.1.7 -solujen erilaistumista voidaan manipuloida lisäämällä niihin forboliestereitä, kuten TPA:ta (12-O-tetradekanyyli-forboli-13-asetatti) ja PMA:ta (forbolimyristiinihappo), joiden tiedetään indusoivan makrofagin kaltaista erilaistumista. Tämä indusoitu erilaistuminen makrofagin kaltaisiksi soluiksi laajentaa HEL 92.1.7 -solulinjan käyttökelpoisuutta erytroiditutkimusten ulkopuolelle, jolloin tutkijat voivat tutkia ja ymmärtää hematopoeettisten solujen plastisuutta ja olosuhteita, joissa linjasitoutumista ja soluidentiteettiä voidaan ohjata uudelleen. Tällaiset tutkimukset ovat ratkaisevan tärkeitä kehitettäessä terapeuttisia strategioita, joilla pyritään manipuloimaan solujen kohtaloa regeneratiivisessa lääketieteessä ja syövän hoidossa.

Organism Ihminen

Tissue Luuydin

Disease Erytroleukemia

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

Ominaisuudet

Age 30 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Pyöreät kennot

Cell type Erytroblastit

Growth properties Tarttuva/riippuvainen

Säätelytiedot

HEL 92.1.7 Solut | 300462

Citation HEL 92.1.7 (Cytionin luettelonumero 300462)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2481

Biomolekyylitiedot

Antigen expression HLA A3, Aw32, Bw35, Ia+

Products Hemoglobiini, globiini (G-gamma-, A-gamma-, epsilon-, zeta- ja alfaketjut), beeta-2-mikroglobuliini, glykoforiini

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HEL 92.1.7 Solut | 300462

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta $300 \times g$:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HEL 92.1.7 Solut | 300462

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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