

Farāža šūnas | 305071

Vispārīga informācija

Description

Farage šūnu līnija ir iegūta no B limfocītiem, kas iegūti no pieaugušas sievietes, kurai diagnosticēta ne-Hodžkina B šūnu limfoma. Šī šūnu līnija ir īpaši vērtīga imunoloģiskajos pētījumos, jo tai piemīt unikālas īpašības un tā reaģē uz dažādiem stimuliem. Farāža šūnas aug suspensijā un izceļas ar to, ka tās neekspresē virsmas vai citoplazmas imūnglobulīnus, tādējādi uzsverot to lietderību pētījumos, kas vērsti uz imūnreakciju bez šo proteīnu iejaukšanās.

Pēc apstrādes ar interleikīnu-4 (IL-4) Farāža šūnās palielinās vairāku marķieru, tostarp CD23, CD54 un CD58, ekspresija, bet samazinās CD21, CD22 un CD38 līmenis. Šī virsmas marķieru modulācija liecina par IL-4 lomu B šūnu uzvedības ietekmēšanā un ir noderīgs modelis signalizācijas ceļu un regulatīvo mehānismu izpētei B šūnās. Turklāt reakcija uz apstrādi ar phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), kas izraisa CD21 un CD23 samazināšanos, vēl vairāk apstiprina tās pielietojumu, pētot ar kināzēm vadītu signalizāciju B šūnās.

Termināaldeoksīnukleotīdīltransferāzes (TdT) un rekombināciju aktivizējošo gēnu (RAG-1 un RAG-2) neesamība Farāža šūnās apstiprina, ka tās drīzāk klasificē kā nobriedušas B šūnas, nevis pirms-B šūnas. Šis aspekts ir būtisks pētījumiem, kas vērsti uz nobriedušām B šūnu attīstības vai funkcijas stadijām. Turklāt Epšteina-Barra vīrusa (EBV) klātbūtnei šajās šūnās var izmantot pētījumos, kuros pētīta vīrusu mijiedarbība ar saimnieka šūnu mehānismiem, jo īpaši saistībā ar onkogēniem procesiem limfocītos.

Organism	Cilvēks
Tissue	Limfātiskā sistēma
Disease	Difūza lielo B šūnu limfoma dīgļšūnu centra B šūnu tips
Metastatic site	Limfmezgls
Synonyms	FARAGE, Farage OL, Farage Original Line

Raksturojums

Age	70 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Eiropas
Morphology	Limfoblasts
Growth properties	Apturēšana

Farāža šūnas | 305071

Normatīvie dati

Citation	Farage (Cytion kataloga numurs 305071)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3302

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildiniet barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS, pievienojiet 2,5 g/l glikozes un 10 mM HEPES
Doubling time	48 stundas
Subculturing	Var kultivēt līdz 1,5–2 x 10 ⁶ šūnām/ml. Viegli homogenizējiet šūnu suspensiju kolbā, pipetējot uz augšu un uz leju, pēc tam ņemiet reprezentatīvu paraugu, lai noteiktu šūnu blīvumu uz ml. Atšķaidiet suspensiju, lai sasniegtu šūnu koncentrāciju 5 x 10 ⁵ šūnas/ml ar svaigu kultūras barotni, un sadaliet pielāgoto suspensiju jaunās kolbās turpmākai kultivēšanai.
Seeding density	5 x 10 ⁵ šūnas/ml
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Farāža šūnas | 305071

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Farāža šūnas | 305071

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.