

HEL 92.1.7 Šūnas | 300462

Vispārīga informācija

Description

HEL 92.1.7 šūnu līnija spēj spontāni diferencēties par eritroblastiem līdzīgām šūnām, atdarinot dažus eritroīdu nobriešanas aspektus in vitro. Šī īpašība padara tās īpaši noderīgas eritroīdu diferenciacijas procesa un ar eritropoēzi saistīto gēnu ekspresijas regulācijas izpētei. To spēja spontāni diferencēties ir unikāla priekšrocība, lai pētītu iekšējos ceļus un mehānismus, kas nosaka eritroīdu prekursoru nobriešanu, nepievienojot ārējus diferenciaciju veicinošus aģentus.

Turklāt HEL 92.1.7 šūnu diferenciaciju var vēl vairāk manipulēt, pievienojot tādus forbolu esterus kā TPA (12-O-tetradekanoil-forbol-13-acetāts) un PMA (forbolu miristīnskābe), kas, kā zināms, inducē makrofāgiem līdzīgu diferenciaciju. Šī inducētā diferenciacija par makrofāgiem līdzīgām šūnām paplašina HEL 92.1.7 šūnu līnijas pielietojumu ārpus eritroīdu pētījumiem, ļaujot pētniekiem izpētīt un izprast hematopoētisko šūnu plastiskumu un apstākļus, kādos var mainīt šūnu līnijas un šūnu identitāti. Šādi pētījumi ir ļoti svarīgi, lai izstrādātu terapeitiskās stratēģijas, kuru mērķis ir manipulēt ar šūnu likteni reģeneratīvās medicīnas un vēža ārstēšanas vajadzībām.

Organism

Cilvēks

Tissue

Kaulu smadzenes

Disease

Eritoleikēmija

Synonyms

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

Raksturojums

Age

30 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Apaļas šūnas

Cell type

Eritroblasts

Growth properties

Pielipšana/suspensija

Normatīvie dati

Citation

HEL 92.1.7 (Cytion kataloga numurs 300462)

HEL 92.1.7 Šūnas | 300462

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_2481

Biomolekulārie dati

Antigen
expression

HLA A3, Aw32, Bw35, Ia+

Products

Hemoglobīns, globīns (G gamma, A gamma, epsilon, zeta un alfa ķēdes), beta-2-mikroglobulīns, glikoforīns

Darbs ar

Culture
MediumRPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements

Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS

Dissociation
Reagent

Accutase

Subculturing

Savāc suspensijas šūnas 15 ml mēģenē un saudzīgi izmazgā pielipušās šūnas ar PBS bez kalcija un magnija (T25 kolbām izmanto 3-5 ml, bet T75 kolbām - 5-10 ml). Uzklājiel Accutase (1-2 ml T25 kolbām, 2,5 ml T75 kolbām), nodrošinot pilnīgu šūnu slāņa pārklājumu. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 10 minūtes. Pēc inkubācijas apvienot un centrifugēt gan suspensiju, gan pielipušās šūnas. Pēc centrifugēšanas uzmanīgi resuspendēt šūnu granulas un pārvietot šūnu suspensiju jaunās kolbās ar svaigu barotni.

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.

HEL 92.1.7 Šūnas | 300462

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 pārnēsiet 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 pārnēsiet 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

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

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

HEL 92.1.7 Šūnas | 300462**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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