

HEL 92.1.7 Komórki | 300462**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa HEL 92.1.7 wykazuje zdolność do spontanicznego różnicowania się w komórki erytroblastopodobne, naśladując niektóre aspekty dojrzewania erytroidalnego in vitro. Ta cecha sprawia, że są one szczególnie przydatne do badania procesu różnicowania erytroidalnego i regulacji ekspresji genów związanych z erytropoezą. Ich zdolność do spontanicznego różnicowania zapewnia wyjątkową przewagę w badaniu wewnętrznych szlaków i mechanizmów, które napędzają dojrzewanie prekursorów erytroidalnych bez dodawania zewnętrznych czynników indukujących różnicowanie.

Co więcej, różnicowaniem komórek HEL 92.1.7 można dalej manipulować poprzez dodanie estrów forbolu, takich jak TPA (12-O-tetradekanoilo-forbol-13-octan) i PMA (kwas foliowy mirystynowy), o których wiadomo, że indukują różnicowanie podobne do makrofagów. To indukowane różnicowanie w komórki podobne do makrofagów rozszerza użyteczność linii komórkowej HEL 92.1.7 poza badania erytroidalne, umożliwiając naukowcom zbadanie i zrozumienie plastyczności komórek krwiotwórczych oraz warunków, w których zaangażowanie linii i tożsamość komórkowa mogą zostać przekierowane. Takie badania mają kluczowe znaczenie dla opracowania strategii terapeutycznych mających na celu manipulowanie losem komórek w medycynie regeneracyjnej i leczeniu raka.

Organism

Człowiek

Tissue

Szpik kostny

Disease

Erytroleukemia

Synonyms

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

Charakterystyka**Age**

30 lat

Gender

Mężczyzna

Ethnicity

Kaukaski

Morphology

Okrągłe komórki

Cell type

Erytroblast

Growth properties

Przyleganie/zawieszenie

Dane regulacyjne

HEL 92.1.7 Komórki | 300462

Citation HEL 92.1.7 (numer katalogowy Cytion 300462)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2481

Dane biomolekularne

Antigen expression HLA A3, Aw32, Bw35, Ia+**Products** Hemoglobina, globina (łańcuchy G gamma, A gamma, epsilon, zeta i alfa), beta-2-mikroglobulina, glikoforyna

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS inaktywowanym termicznie**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecany jest stosunek 1:3**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

HEL 92.1.7 Komórki | 300462**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

HEL 92.1.7 Komórki | 300462**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10
D13S317: 9,11
D16S539: 11
D5S818: 11
D7S820: 7
TH01: 7
TPOX: 11
vWA: 14,17
D3S1358: 15
D21S11: 29,30.2
D18S51: 12,16
Penta E: 13,18
Penta D: 11,13
D8S1179: 13,15
FGA: 22,23

Allele HLA

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