

143B Rakud | 305232**Üldine teave****Description**

143B rakuliin on inimese osteosarkoomi rakuliin, mis on saadud luukasvajast. Seda kasutatakse sageli vähiuuringutes selle suure metastaatilise potentsiaali ja võime tõttu moodustada osteosarkoomi kasvajat in vivo. Nendel rakkudel on mitmeid osteosarkoomi põhilisi tunnuseid, sealhulgas osteoblastiliste markerite ekspressioon ja võime toota osteoidi. 143B rakuliin on eriti väärtuslik luuvähi progresseerumise ja metastaaside tekke aluseks olevate mehhanismide uurimiseks ning osteosarkoomi raviks mõeldud potentsiaalsete raviainete testimiseks.

143B rakud on tuntud oma kiire kasvu ja kõrge transfektsioonitõhususe poolest, mistõttu sobivad nad geneetiliseks manipulatsiooniks ja mitmesugusteks eksperimentaalseteks rakendusteks. Neid rakke on kasutatud uuringutes, millega uuritakse konkreetsete geenide ja signaaliradade rolli osteosarkoomi arengus ja resistentsuses keemiaravile. Lisaks on 143B rakuliin mudeliks osteosarkoomirakkude ja luu mikrokeskkonna vaheliste interaktsioonide uurimiseks, andes ülevaate luukasvajate keerulisest bioloogiast.

Organism

Inimene

Tissue

Luu, parem reieluu

Disease

Osteosarkoom

Synonyms

143b, 143 B, 143B TK-, 143B.TK-, 143BTK-, 143TK-, HOS-143B, HOS-143b, GM05887, GM05887A

Omadused**Age**

13 aastat

Gender

Naised

Ethnicity

Kaukaasia

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed**Citation**

143B (Cytioni katalooginumber 305232)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

143B Rakud | 305232

CellosaurusAccession CVCL_2270

Biomolekulaarsed andmed**Töötlemine**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAaga
--------------------	---------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	---

Seeding density	2×10^4 rakku/cm ²
------------------------	---------------------------------------

Freeze medium	Krüsäilitusvedelikusena 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.
----------------------	---

143B Rakud | 305232**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 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °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 vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x 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°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 °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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

143B Rakud | 305232

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 ja molekulaaranalüüs

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.