

16HBE14o- Rakud | 305234**Üldine teave****Description**

Rakuliin 16HBE140 on saadud inimese bronhide epiteelirakkudest, mis on olulised hingamisteede epiteeli uurimiseks. Need rakud säilitavad mitmeid primaarsete bronhide epiteelirakkude põhilisi omadusi, sealhulgas võime moodustada tihedaid ühendusi, ekspresseerida iseloomulikke markereid ja omada tüüpilist epiteeli morfoloogiat. Neid kasutatakse laialdaselt hingamisteede haiguste, ravimitranspordi ja toksikoloogia uuringutes, pakkudes usaldusväärset in vitro mudelit bronhide epiteelirakkude käitumise mõistmiseks erinevates tingimustes.

Üks olulisi rakendusi 16HBE140 rakkudele on tsüstilise fibroosi (CF), hingamisteid mõjutava geneetilise haiguse uurimine. Need rakud ekspresseerivad tsüstilise fibroosi transmembraanjuhtivuse regulaatori (CFTR) valku, mis teeb neist väärtusliku vahendi CF patofüsioloogia uurimiseks ja potentsiaalsete raviainete skriininguks. Lisaks kasutatakse 16HBE140 rakke hingamisteede põletiku uurimisel, arvestades nende reaktsiooni põletikupõhiste tsütokiinidele ja saasteainetele, mis aitab mõista selliseid kroonilisi hingamisteede haigusi nagu astma ja krooniline obstruktiivne kopsuhaigus (KOK).

Organism Inimene**Tissue** Kopsud, bronhid**Synonyms** 16HBE14o-, 16-HBE14o, 16-HBEo, 16HBEo-, 16-HBEo-, 16-HBE, 16HBE**Omadused****Age** 1 aasta**Gender** Mees**Cell type** Bronhuse epiteelirakk**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** 16HBE140- (Cytioni katalooginumber 305234)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0112

16HBE14o- Rakud | 305234

GMO Status GMO-S1: See inimese bronhiaalepiteeli rakuliin (16HBE14o-) kannab mitte paljunevat pSVori-põhist konstruktsiooni, mis ekspresseerib SV40 Large T antigeeni Macaca mulatta polyomavirus 1-st, mis võimaldab pikendatud proliferatsiooni rakutsükli kontrolli häirimise kaudu. Insert on stabiilselt olemas inimese primaarsetes bronhiaalepiteelirakkudes. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Viruses Transformant: simian virus 40 (SV40)

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

Supplements Täiendada söötme 10% hobuse seerumi ja 1% NEAA-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena 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.

16HBE14o- Rakud | 305234

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

LHC baaslahusel põhinev katteaine: 0,01 mg/ml inimese fibronektiini, 0,1 mg/ml veise seerumalbumiini (BSA)

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

16HBE14o- Rakud | 305234

**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 / Geneetiline profiil / HLA

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.