

MB49 rakud | 305240

Üldine teave

Description

MB49 rakuliin on C57BL/6 hiire põie epiteelirakkudest saadud hiire mudel. Algselt töötati see välja põievähi uurimiseks, pakkudes platvormi uroteeli kartsinoomi bioloogiliste ja molekulaarsete omaduste uurimiseks. Rakuliin loodi põiekasvajate keemilise indutseerimise teel, kasutades kantserogeeni 7,12-dimetüülbens[a]antratseeni (DMBA), nagu on üksikasjalikult kirjeldatud varajastes teadusuuringutes. MB49 rakud ilmutavad süngeensetele hiirtele siirdamisel tumorigeenet fenotüüpi, moodustades uroteeli kartsinoomi. Need kasvavad on sageli halvasti diferentseeritud ja võivad omada segamorfoloogiat, sealhulgas spindlikujulisi rakke ja adenokartsinoomseid piirkondi, mis sarnanevad inimese patoloogias esinevate agressiivsete põievähi alatüüpidega.

Edasised uuringud on viinud MB49-I väljatöötamiseni, mis on MB49 invasiivsem alamliin. See alamliin loodi pärast 13 järjestikust in vivo läbimist, suurendades selle invasiivset ja metastaatilist potentsiaali. MB49-I rakkudel on suurenenud proteolüütiline aktiivsus, eriti selliste ensüümide nagu katepsiin B, matriksmetalloproteiin 9 (MMP-9) ja urokinaasi tüüpi plasminogeeni aktivaator (uPA) puhul. Need ensüümid aitavad kaasa rakuvälise matriksi komponentide lagundamisele, hõlbustades kasvajakude sissetungi ja metastaaside teket. MB49-I alamliin, kui see inokuleeritakse ortotoopiliselt süngeensete hiirte põiepõie, põhjustab väga invasiivsete põiekasvajate teket, mis muudab selle väärtuslikuks mudeliks kasvajakude progresseerumise uurimiseks ja invasiivsuse ja metastaaside vältimisele suunatud vähivastaste ravimite testimiseks.

See MB49 mudel, sealhulgas MB49-I variant, aitab mõista põievähi progresseerumise aluseks olevaid molekulaarseid mehhanisme ja töötada välja uusi ravistrateegiaid. Mudel jäljendab täpselt inimese põievähki, eelkõige selle võime poolest simuleerida haiguse invasiivseid ja metastaatilisi omadusi, pakkudes seega tugevat süsteemi prekliinilisteks uuringuteks.

Organism	Hiir
Tissue	Uriinipõie
Disease	Hiire põie üleminekurakkude kartsinoom
Synonyms	MB-49

Omadused

Breed/Subspecies	C57BL/ICRF-a(t)
Age	Täiskasvanud
Gender	Mees
Morphology	Epiteel

MB49 rakud | 305240

Growth properties	Kinnipeetav
--------------------------	-------------

Regulatiivsed andmed

Citation	MB49 (Cytioni katalooginumber 305240)
-----------------	---------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10090
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_7076
-----------------------------	-----------

Biomolekulaarsed andmed

Karyotype	On kaotanud kromosoomi Y
------------------	--------------------------

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
-----------------------	---

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-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.
----------------------	--

MB49 rakud | 305240

**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

Puudub

**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.

MB49 rakud | 305240

**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.