

AU565 rakud | 305313

Üldine teave

Description

AU565 rakuliin on saadud inimese rinnanäärme kartsinoomist ja on klassifitseeritud HER2-positiivseks, mistõttu on see väärtuslik mudel HER2-suunaliste ravimeetodite, näiteks trastuzumabi (TZM), uurimiseks. Neid rakke kasutatakse laialdaselt rinnavähi käitumise uurimiseks, eelkõige seoses ravimite sihipärase manustamisega ja metastaatiliste protsessidega. AU565 rakke kasutavad uuringud on näidanud, et neil on märkimisväärne HER2 ekspressioon plasmamembraanis, mis hõlbustab HER2-vastaste monoklonaalsete antikehade, nagu TZM, sidumise tõhususe ja internaliseerumise uuringuid. AU565 rakkudel on TZM-i tõhus seondumine membraanil ja sellele järgnev akumulatsioon rakusisestes kompartmentides, mis annab ülevaate endotsüütilistest ja liikumismehhanismidest, mis on seotud TZM-i omastamise ja säilitamisega kasvajakudedes. See ainulaadne käitumine muudab AU565 eriliseks mudeliks võrreldes teiste HER2-positiivsete rakuliinidega ja toetab selle kasutamist ravimite efektiivsuse ja rakumembraanide dünaamika uurimisel.

AU565 rakud on ka mudeliks metastaatilise käitumise uurimiseks, eriti transendoteliaalse rände uurimiseks, mis on vähi metastaasi kriitiline samm. Kuna AU565 on nõrgalt invasiivne rakuliin, sõltub AU565 võime rännata läbi endoteelirakkude kihtide suuresti fokaalse adhesiokinaasi (FAK) signaalimisest, mis hõlbustab migratsiooni ajal interaktsioone rakuvälise maatriksi ja endoteelirakkudega. On näidatud, et FAK-i aktiivsuse inhibeerimine AU565 rakkudes vähendab nende migratsioonikiirust, mis rõhutab FAK-i rolli rakkude liikuvuses ja viitab selle potentsiaalile terapeutilise sihtmärgina metastaatilise progresseerumise piiramiseks. Lisaks sellele reageerivad AU565 rakud kasvaja mikrokeskkonna erinevustele, näiteks erinevustele kollageeni tiheduses, mis võivad mõjutada ravimi manustamise tõhusust ja resistentsust. Need omadused muudavad AU565 rakud võimsaks mudeliks HER2-le suunatud ravimeetodite ja kasvaja mikrokeskkonna mõju uurimiseks ravi tulemustele.

Organism Inimene

Tissue Rind

Disease Adenokartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

Synonyms AU-565, AU 565

Omadused

Age 43 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

AU565 rakud | 305313

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation AU565 (Cytioni katalooginumber 305313)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1074

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed Epidermise kasvufaktor (EGF)

Oncogenes Her2/neu+ (üleekspresseeritud), her3+, her4+, p53+

Mutational profile Mutatsioon: TP53, p.Arg175His (c.524G>A), homosügootne

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

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.

Fluid renewal 1 kuni 2 korda nädalas

AU565 rakud | 305313

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid 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 tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid 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 vialid 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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.

AU565 rakud | 305313

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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.