

IM95m rakud | 305557

Üldine teave

Description

Rakuliin IM95m on saadud mõõdukalt diferentseerunud mao adenokartsinoomist ning on tuntud oma võime poolest toota märkimisväärsed koguseid tsütokiinidest, eelkõige hepatotsüütide kasvufaktorit (HGF), veresoonte endoteeli kasvufaktorit (VEGF) ja interleukiini-8 (IL-8). See omadus teeb IM95m-st väärtusliku mudeli kasvajate ja angiogeneesi vastastikmõju ning vähi leviku ja metastaaside mehhanismide uurimiseks. Rakuliinil on epiteelne morfoloogia tihedate rakusiseste ühendustega ja arvatud kahekordistumisaeg on umbes 25 tundi. IM95m loodi algselt maovähi proovist ja on näidanud võimet moodustada kasvajaid in vivo, mis viitab selle tuumorigeensele potentsiaalile.

IM95m võime eritada suuri koguseid HGF-i ja VEGF-i on eriti oluline vähi progressiooni uuringutes, kuna need kasvufaktorid on angiogeneesi ja kasvaja kasvu peamised ajendajad. HGF tootmine on pidev ja märkimisväärne, mis suurendab IM95m potentsiaali anda teadmisi HGF-i poolt juhitud vähiradade käitumise kohta. Nende faktorite sekretsioon viitab IM95m rollile sihtterapiate, nagu VEGFR-inhibiitorid, resistentsusmehhanismide uurimisel, kus HGF-i vahendatud signaalimine võib mängida rolli ravi efektiivsuse vähenemises.

Lisaks angiogeneesiga seotud tsütokiinide tootmisele on IM95m-i hinnatud ka kasvajate kasvu pärssimist käsitlevates eksperimentaalsetes mudelites. Selle ekspressiooniprofiil toetab uuringuid ravistrateegiatest, mis on suunatud samaaegselt nii VEGF-i kui ka HGF-i signaaliteedele – lähenemisviis, mis võiks pakkuda terviklikumaid vähiravi tulemusi.

Organism Inimene

Tissue Maha

Disease Mao adenokartsinoom

Synonyms IM95M, IM95 m, IM-95m

Omadused

Age 63 aastat

Gender Mees

Ethnicity Jaapani

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

IM95m rakud | 305557

Citation IM95m (Cytioni katalooginumber 305557)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2962

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

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 TrypLE Expressiga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeeruda 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.

IM95m rakud | 305557

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.

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.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

IM95m rakud | 305557

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon 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.