Product sheet

HT-1197 rakud | 305800

Üldine teave

Description	HT-1197 on inimese uroteliaalse kartsinoomi rakuliin, mis on loodud täiskasvanud meessoost patsiendi kõrgekvaliteedilisest üleminekurakukartsinoomist põies. See liin on saadud pärast mitmekordset kirurgilist resektsiooni retsidiveerunud kasvajast, millel oli enne patsiendi surma agressiivne kliiniline käitumine ja laialt levinud metastaasid. Morfoloogiliselt on HT-1197 rakkudel epiteeli tunnused, sealhulgas mikrovillide, toonofibrillide ja desmosoomide olemasolu, nagu on täheldatud elektronmikroskoopias, mis viitab nende uroteeli epiteeli päritolule. Need rakud on karyotüübiliselt eristatavad, nende kromosoomid on identifitseeritavad ja neil on võime kasvada pehmel agaril, mis on ankurdumisest sõltumatu kasvu tunnuseks, ning nad on tuumorigeensed nii alasti hiirtel kui ka immunosupresseeritud hamstritel. Molekulaarsel tasandil on HT-1197-l mitu peamist onkogeenset mutatsiooni, mida tavaliselt seostatakse põievähiga. Ta kannab aktiveerivat S249C mutatsiooni FGFR3-s ja E545K mutatsiooni PIK3CA-s, mis mõlemad on levinud uroteliaalse põiekartsinoomi patogeneesis. Lisaks sellele on HT-1197-l NRAS-is Q61R-mutatsioon ja mutatsioonid TERT-promootori piirkonnas, mis viitab suurenenud proliferatiivsele võimekusele ja telomeraasi aktiivsusele. TP53 staatus sisaldab c.1094A>G muutust, mis viitab täiendavalt rakutsükli kontrolli ja genoomi stabiilsuse häiretele. Genoomiline profiilianalüüs näitab, et HT-1197 kuulub uroteeli vähi rakuliinide alamrühma, mida iseloomustab suur genoomiline ebastabiilsus ja molekulaarsed tunnused, mis on kooskõlas põievähi agressiivsema, lihasinvasiivse alatüübiga.
Organism	Inimene
Tissue	Uriinipõie
Disease	Retsidiveerunud põiekartsinoom
Synonyms	HT 1197, HT1197, HT 1197.T

Omadused

Age	44 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	HT-1197 (Cytioni kataloginumber 305800)

HT-1197 rakud | 305800

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1291

Biomolekulaarsed andmed

Isoenzymes	G6PD, B
Tumorigenic	Jah; Jah, hiirtel ja hamstritel
Mutational profile	Mutatsioon: NRAS, Simple, p.Gln61Arg (c.182A>G), täpsustamata. Mutatsioon, TERT, Simple, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T), täpsustamata, Märkus=Promootoris. Mutatsioon, TP53, Simple, p.His365Arg (c.1094A>G), täpsustamata

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% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	61 tundi
Fluid renewal	kaks korda nädalas
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.

HT-1197 rakud | 305800

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.
Flask Coating	Puudub
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 ja molekulaaranalüüs

HT-1197 rakud | 305800

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.