

IGR-1 rakud | 300219

Üldine teave

Description

IGR-1 rakuliin on saadud inimese pahaloomisest melanoomist, mistõttu on see väärtuslik mudel melanoomi patofüsioloogia uurimiseks ja vähivastaste ravimeetodite testimiseks. Need rakud on epiteeliaalsed ja neil on agressiivsele melanoomile iseloomulikud omadused, sealhulgas kiire proliferatsioon ja võime moodustada kolooniaid pehmel agaril, mis on onkogeense transformatsiooni tunnuseks. IGR-1 rakuliin on eriti kasulik uuringutes, mis keskenduvad melanoomi progresseerumist põhjustavate molekulaarsete mehhanismide mõistmisele, samuti sihtteraapiate ja immunoteraapiate väljatöötamisele ja testimisele.

IGR-1 rakkudel on melanoomi puhul levinud mutatsioonid, sealhulgas muutused MAPK/ERK-ahelas, mis on selle vähitüübi puhul sageli düsreguleeritud. Need mutatsioonid aitavad kaasa rakuliini võimele kontrollimatult paljuneda ja apoptoosile vastu seista. Teadlased kasutavad IGR-1 rakke, et uurida erinevate inhibiitorite mõju sellele signaaliradale, mis annab ülevaate võimalikest ravistrateegiast. Lisaks sellele sobib rakuliin melanoomiga seotud antigeenide ekspressiooni tõttu melanoomi vastase immuunvastuse uurimiseks, sealhulgas uute immuunteraapiliste lähenemisviiside väljatöötamiseks.

Organism Inimene

Tissue Nahk

Disease Pahaloomuline melanoom

Metastatic site Liigeselümfisõlmede lümfisõlmede

Synonyms IGR 1, IGR1, Institut Gustave Roussy-1

Omadused

Age 42 aastat

Gender Mees

Morphology Polügonaalne

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation IGR-1 (Cytioni katalooginumber 300219)

Biosafety level 1

IGR-1 rakud | 300219

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1303

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel.

Products Melaniin

Mutational profile IGR-1 rakud kannavad heterosügootset BRAFV600K mutatsiooni, kuid on BRAFV600E suhtes metsikut tüüpi.

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 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.

Seeding density $3 \times 10^4/\text{cm}^2$ pärast sulatamist, 1 kuni $2 \times 10^4/\text{cm}^2$ rutiinseks jagamiseks

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery 1 kuni 2 päeva

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

IGR-1 rakud | 300219

**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 rakususpensioon 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.

IGR-1 rakud | 300219

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.

HLA alleles

A*: '02:01:01, '03:01:01
B*: '35:01:01, '44:02:01
C*: '04:01:01, '05:01:01
DRB1*: '01:01:01, '04:01:01
DRB4*: 01:01:01:01
DQA1*: '01:01:01, '03:03:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01, '01:06