

C643 Rakud | 300298**Üldine teave****Description**

Rakuliin C643 loodi 1987. aastal Mark et al. poolt 76-aastase mehe anaplastilise kilpnäärmekartsinoomi peennõelabiopsiast. Patsient suri 5 kuu jooksul pärast diagnoosimist. Türeoglobuliini mRNA tuvastamine kinnitas rakuliini kilpnäärme epiteelilikkude päritolu. C643 rakud kujunevad väärtuslikuks vahendiks kilpnäärmevähki uurimisel.

Need rakud pärinesid inimese kilpnäärmevähki koest ja esindasid metastaatilisi PTC, FTC ja ATC rakke. Nende geneetiline koostis peegeldab kilpnäärmevähki puhul täheldatud üldisi mutatsioone, näiteks muutusi BRAF-, RAS- ja PI3K-geenides, mis aktiveerivad kriitilisi signaaliradu.

See muudab C643 rakud ideaalseks mudeliks kilpnäärmevähki arengus ja progresseerumises osalevate mehhanismide uurimiseks. Lisaks on C643 rakud oluline ressurss võimalike sihtotstarbeliste ravimeetodite testimiseks.

Nende kaasamine prekliinilistesse uuringutesse võib aidata tuvastada ja hinnata uusi ühendeid, mis on suunatud konkreetsetele kilpnäärmevähki seotud muutunud signaaliradadele. Kuna C643 rakud esindavad täpselt inimese kilpnäärmevähki, aitavad need kaasa tõhusamate ravimeetodite väljatöötamisele kaugelearenenud kilpnäärmevähki patsientidele.

Organism Inimene**Tissue** Kilpnäärme anaplastiline**Disease** Anaplastiline kilpnäärmekartsinoom**Synonyms** C 643, C-643, c643**Omadused****Age** 76 aastat**Gender** Mees**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Epiteelilaadsed**Growth properties** Monokihiline, kleepuv**Regulatiivsed andmed**

C643 Rakud | 300298

Citation C643 (Cytioni katalooginumber 300298)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5969

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel

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.**Seeding density** 1×10^4 rakku/cm² moodustab umbes 3 päeva jooksul konfluentse kihi.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.**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.

C643 Rakud | 300298**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 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial 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 vial 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°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 °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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

C643 Rakud | 300298

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

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.