

MADB106 rakud | 305205**Üldine teave****Description**

MADB106 rakuliin on Fischer 344 rottidelt pärinev rinnavähi adenokartsinoomi rakuliin, mida kasutatakse laialdaselt vähiuuringutes, eelkõige metastaaside ja kasvajate suhtes tekkiva immuunvastuse uurimisel. See rakuliin on Fischer 344 rottide tüvega süngeenne, mis tähendab, et see on geneetiliselt ühilduv, mis võimaldab uurida kasvaja kasvu ja metastaase immuunkompetentses keskkonnas, mis jäljendab täpselt füsioloogilisi tingimusi. MADB106-rakud asuvad peamiselt kopsudesse ja koloniseerivad neid, kui neid manustatakse veenisiseselt, mistõttu on need väärtuslik mudel kopsu- ja metastaaside uurimiseks.

MADB106-rakke kasutavad uuringud on toonud esile looduslike tapjarakkude (NK-rakkude) otsustava rolli metastaaside kontrollimisel. Täpsemalt on NK-rakud aktiivsed metastaaside varajastes staadiumites, eriti esimeste tundide jooksul pärast kasvajakude süstimist. Uuringud on näidanud, et NK-rakkude arvu vähenemine toob kaasa kasvajakude kinnipidamise ja metastaaside olulise suurenemise, rõhutades NK-rakkude aktiivsuse tähtsust kasvaja leviku takistamisel. Lisaks on täheldatud vanusest tingitud erinevusi NK-rakkude aktiivsuses: noorematel loomadel on NK-rakkude vahendatud tsütotoksilisus vähenenud, mis põhjustab suuremat vastuvõtlikkust metastaaside tekkele. Need leiud muudavad MADB106-mudeli keskseks mudeliks immuunsüsteemi ja vähi vaheliste vastasmõjude uurimisel, eriti NK-rakkude vahendatud kasvaja kontrolli aluseks olevate mehhanismide uurimisel.

Organism

Rott

Disease

Roti rinnavähi adenokartsinoom

Synonyms

MADB-106, MADB 106

Omadused**Breed/Subspecies**

Fischer 344

Gender

Naised

Morphology

Epiteel

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed**Citation**

MADB106 (Cytioni katalooginumber 305205)

Biosafety level

1

MADB106 rakud | 305205

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_BT04

Biomolekulaarsed andmed

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, 5 min, 37 °C

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 $1-3 \times 10^4$ rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 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.

MADB106 rakud | 305205**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.

**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.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid 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

MADB106 rakud | 305205

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.