Product sheet

HT-1376 rakud | 305100

Üldine teave

Description	HT-1376 rakuliin on saadud inimese põiekartsinoomist, täpsemalt 3. astme üleminekurakkude kartsinoomist. See rakuliin loodi kasvajast, mis saadi transuretraalse resektsiooni teel täiskasvanud naispatsiendilt, kellel oli varem invasiivne põiekartsinoom. HT-1376 rakkudel on epiteeliomadused, sealhulgas mikrovillide ja toonofibrillide olemasolu, mis viitab nende epiteeli päritolule. Lisaks on neil rakkudel mitu markerkromosoomi, mis eristavad neid teistest teadaolevatest kasvajarakkude liinidest. HT-1376 rakud kasvavad teadaolevalt ka pehmel agaril ja on väga tumorigeensed, moodustades immuunpuudega hiirtele ja hamstritele süstimisel kasvajaid. HT-1376 on oluline põievähi uurimisel selle geneetilise profiili tõttu, mis hõlmab märkimisväärseid muutusi kromosoomi 9p21 piirkonnas. Selles piirkonnas esineb sageli suuri homosügootseid deletsioone, mis viivad kriitiliste kasvajasupressorgeenide, nagu CDKN2, CDKN2B ja MTAP, inaktiveerumiseni. Need deletsioonid on põievähi puhul tavalised ja on olulised kasvajate tekke aluseks olevate molekulaarsete mehhanismide mõistmiseks. Näiteks CDKN2 ja CDKN2B kadumine on seotud rakutsükli düsregulatsiooniga, mis on vähi progresseerumise võtmesündmus. Lisaks on HT-1376 rakkudes uuritud CDKN2 geeni toote p16 valgu ekspressiooni, mis on sageli korrelatsioonis teise kasvajasupressorvalgu pRb ekspressiooni puudumisega. HT-1376 rakuliini on kasutatud ka viroloogiauuringutes, et hinnata kasvajaviiruste olemasolu, kuigi nendes rakkudes ei ole tuvastatud viiruse ekspressiooni. See muudab HT-1376 väärtuslikuks mudeliks põievähi arengu ja progresseerumise mitte-viiruslike mehhanismide uurimiseks. Rakuliini geneetilised muutused ja selle võime kasvada in vitro ja in vivo annavad tugeva platvormi prekliinilisteks uuringuteks, sealhulgas ravimite testimiseks ja uute ravistrateegiate uurimiseks, mis on suunatud põievähi konkreetsetele geneetilistele radadele.
Organism	Inimene
Tissue	Uriinipõie
Disease	Põie kartsinoom
Synonyms	HT1376, HT 1376, HT 1376.T

Omadused

Age	58 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Euroopa
Morphology	Epiteel
Growth properties	Kinnipeetav

Product sheet

HT-1376 rakud | 305100

Regulatiivsed andmed

Citation	HT-1376 (Cytioni kataloognumber 305100)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1292

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	Fibrinolüütiline aktiivsus, interferoon
Tumorigenic	Jah

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 ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	31 tundi
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.
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 kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HT-1376 rakud | 305100

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
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 viaalid 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 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

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.