

U-118 MG rakud | 300362

Üldine teave

Description	See on üks mitmest rakuliinist, mis on saadud J. Ponteni ja tema kaaslaste poolt aastatel 1966-1969 saadud pahaloomulistest glioomidest (vt ka U-87 MG, U-138 MG ja U-373 MG).
Organism	Inimene
Tissue	Aju
Disease	Astrotsütoom
Metastatic site	Ei kohaldata (primaarne intrakraniaalne kasvaja; kaugmetastaase puuduvad)
Applications	Glioblastoomi/astrotsütoomi uurimine; gliaalsete kasvajate bioloogia; kiirgustundlikkus; kemoteraapia hindamine (temozolomiid, CCNU); EGFR-signaalitee analüüs; NF-κB-signaalimine; kesknärvisüsteemi kasvajate prekliiniline modelleerimine
Synonyms	U-118 MG, U-118-MG, U118-MG, U118MG, U118, U118, 118 MG, 118MG

Omadused

Age	47 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Segatud
Cell type	Glia rakud (astrotsüüdid)
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	U-118 MG (Cytioni katalooginumbr 300362)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

U-118 MG rakud | 300362

CellosaurusAccession CVCL_0633**GMO Status** Geneetiliselt muundamata; J. Ponteni jt (1966–1969) poolt isoleeritud looduslik glioomi rakuliin**Biomolekulaarsed andmed****Antigen expression** Veregrupp A, Rh+, HLA Aw24, A28, B12, Bw47**Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 2, PGM1, 2, ES-D, 1, AK-1, 1-2, GLO-1, 1-2, G6PD, B, fenotüübi sagedustoode: 0.0001**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel**Karyotype** Liinil on peaaegu pentaploidne kromosoomide arv ja kromosoomide arvu jaotumine on väga erinev (40% rakkudest oli kromosoomide arvud vahemikus 110-115). Enamikus metafaasidest leiti järgmised 14 markerit: t(1p,2p), t(3p,?), t(4p,11q), t(7p,22q), M6, t(9q,?), i(11q)18q t(10q,?), M14, M15, M16, M17 ja t(10q,22q), neist 6 leiti mõnes ja 10 ainult ühes. Normaalsetel kromosoomidel 7, 8, 12, 19, 20 ja 22 oli 5 kuni 6 koopiat raku kohta, x-l oli kaks koopiat ja Y puudus.**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**Doubling time** umbes 36–48 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.**Split ratio** 1–3**Seeding density** 2×10^4 rakku/cm²

U-118 MG rakud | 300362

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist külvake rakud tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske neil enne esimest kasvukeskkonna vahetust vähemalt 24 tundi kinnituda.

Freeze medium Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal 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 vialali 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 vialali 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% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

U-118 MG rakud | 300362

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 / 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*: '24:02:01, '29:02:01

B*: '39:06:02, '44:03:01

C*: '07:02:01, '16:01:01

DRB1*: '07:01:01, '08:01:01G

DQA1*: '02:01:01, '04:01:01

DQB1*: '02:02:01, '04:02:01

DPB1*: '04:02:01, '11:01:01

E: '01:01, '01:03