

NCI-H716 rakud | 305079

Üldine teave

Description

NCI-H716 rakuliin on inimese adenokartsinoomi rakuliin, mis on saadud käärsoolest. See loodi 33-aastase kaukaasia mehe astsiidi metastaatilises asukohast. NCI-H716 rakuliini üks iseloomulikke omadusi on selle võime ekspresseerida ja eritada enteroendokriinset hormooni, eelkõige glükagoonilaadset peptiidi 1 (GLP-1), mis muudab selle väga oluliseks soolestiku hormoonide füsioloogia ja enteroendokriinsüsteemi uurimisel. See aspekt on oluline diabeediuuringute jaoks, eriti seoses insuliini sekretsiooni ja glükoosi homöostaasi hormonaalse regulatsiooni uurimisega.

Need rakud on kohandatud kasvama hõljuvate agregaatidena või suspensioonikultuuris, mis on epiteelidest saadud rakkude puhul mõnevõrra ebatavaline. Võimalus kasvada suspensioonis võimaldab uurida rakkude vastastikmõju ja signaaliradu kolmemõõtmelises kultuurikeskkonnas, mis võib in vivo tingimusi paremini jäljendada kui traditsioonilised monokihilised kultuurid. NCI-H716 rakuliini on laialdaselt kasutatud hormoonide sekretsiooni, farmakoloogilistele ainetele reageerimise ning soole epiteelirakkude ja mikrobiota vahelise koostoime uurimiseks. Seda rakuliini kasutades tehtud uuringud on oluliselt kaasa aidanud seedetrakti haiguste patofüsioloogia mõistmisele ja soole-aju teljele suunatud ravistrateegiate väljatöötamisele.

Lisaks kasutatakse NCI-H716 rakke terapeutiliste ühendite testimiseks nende võimaliku mõju suhtes sekretsioonile ja retseptorivastusele. Nende ainulaadne hormonaalne profiil võimaldab kasutada neid ka farmakodünaamilistes uuringutes ja ravimite avastamisel seoses ainevahetushäirete ja rasvumisega. Seega on NCI-H716 oluline vahend translatiivses meditsiinis, mis ühendab alusuuringuid ja kliinilisi rakendusi seedetrakti ja ainevahetushaiguste valdkonnas.

Organism	Inimene
Tissue	Cecum
Disease	Cecum adenokartsinoom
Metastatic site	Astsiit
Synonyms	NCI H716, NCI-H716, H-716, NCIH716, NCIH716

Omadused

Age	33 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Euroopa
Morphology	Epiteel

NCI-H716 rakud | 305079

Growth properties Suspension, paljurakulised agregaadid ja mõned adherentsed rakud

Regulatiivsed andmed

Citation NCI-H716 (Cytioni katalooginumber 305079)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1581

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

Doubling time 50 tundi

Subculturing Homogeniseerige kolvis olev rakususpensioon õrnalt pipeteerides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värskesse kultuurikeskkonnaga, et saavutada rakkude kontsentratsioon 1×10^5 rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.

Split ratio 1:2 kuni 1:5

Seeding density $> 3 \times 10^5$ rakku/ml

Fluid renewal Lisage iga päev 1 ml värsket keskkonda, nädalavahetuse võib ära jätta, ja eraldage klastrid vastavalt vajadusele pipeteerimise teel

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.

NCI-H716 rakud | 305079

**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 raku suspensioon 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.

NCI-H716 rakud | 305079

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.