

WEHI-164 rakud | 400438**Üldine teave****Description**

WEHI-164 rakuliin loodi algselt fibrosarkoomist, mis tekkis BALB/c hiirel pärast 3-metüülkolantreeni nahaalust süstimist. See rakuliin on saadud mesenhümaalsest koest ja sellel on fibroblastilaadsetele rakkudele iseloomulikud omadused. WEHI-164 on olnud oluline vahend vähktõve uurimisel, andes teadmisi eelkõige kasvaja immunoloogia ja apoptoosi rakumehhanismide kohta.

WEHI-164 rakke hinnatakse teadusuuringutes eriti kõrgelt nende tundlikkuse tõttu tsütokiinide poolt esilekutsutud apoptoosile, mis teeb neist olulise mudeli tsütokiinide ja vähirakkude vahelise koostoime uurimiseks. WEHI-164 rakuliin on tänu oma tundlikkusele selliste tsütokiinide suhtes nagu tuumornekroosifaktor (TNF) ja TRAIL (TNF-ga seotud apoptoosi indutseeriv ligand) kasulik ressurss rakusurma vahendavate signaaliradade uurimiseks ja võimalike vähivastaste ravimeetodite skriininguks, mis võiksid neid radasid manipuleerida. Lisaks võimaldavad rakuliini fibroblastilaadsed omadused uurida rakkude morfoloogiat, kasvuomadusi ja kasvajate mikrokeskkonda, mis võimaldab paremini mõista kasvajate dünaamikat ja rakkude maatriksis toimuvaid vastastikmõjusid.

Hoolimata selle ulatuslikust kasutamisest teadusuuringutes on WEHI-164 rakuliinil mitmeid kromosoomaberratsioone, mis on keemilise kantserogeneesi käigus muundunud rakkude puhul tavaline. Need geneetilised ebastabiilsused on olulised uuringutes, mis keskenduvad arusaamisele, kuidas geneetilised variatsioonid võivad mõjutada vähi progresseerumist ja ravile reageerimist. WEHI-164 jätkuv kasutamine erinevates uuringurühmades rõhutab selle kasulikkust vähi bioloogia tundmaõppimisel ja uute ravimeetodite väljatöötamisel.

Organism	Hiir
Disease	Fibrosarkoom
Synonyms	WEHI 164, WEHI164, WEHI 164 TC

Omadused

Breed/Subspecies	BALB/c
Morphology	Fibroblastilaadsed
Cell type	Fibroblastide
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	WEHI-164 (Cytioni katalooginumbr 400438)
-----------------	--

WEHI-164 rakud | 400438**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_2251**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Jah, Balb/c 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**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 48 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.

WEHI-164 rakud | 400438**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.

WEHI-164 rakud | 400438

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.