

T98G rakud | 305030

Üldine teave

Description

T98G rakuliin on inimese glioblastoomi multiformi mudel, mis on saadud 61-aastaselt meessoost patsiendilt. See loodi kasvajate tekke, rakkude proliferatsiooni ja transformatsiooni molekulaarmehhanismide uurimiseks. T98G rakkudel on ainulaadne kombinatsioon nii normaalsete kui ka transformeerunud rakkude omadustest, mis teeb neist väärtusliku mudeli vähibioloogia uurimiseks. Täpsemalt, kuigi T98G rakud on surematud ja võimelised ankurdumisest sõltumatult kasvama, säilitavad nad võime G1-faasi peatumiseks statsionaarse faasi tingimustes, mis on tavaliselt normaalsete rakkude omadus.

T98G rakkude kasvuomadusi iseloomustab nende ankurdumisest sõltumatus, mida näitab nende võime moodustada kolooniaid metüülselluloosis, mis on pooltahke keskkond. Erinevalt paljudest transformeeritud rakuliinidest peatuvad nad siiski rakutsükli G1-faasis, kui neid rakendatakse suure rakutiheduse või madala seerumikontsentratsiooni tingimustes. See ainulaadne võime läbida G1-seiskumine nendes tingimustes eristab T98G teistest vähirakuliinidest, nagu HeLa või T98 vanemrakud, mis jätkavad paljunemist sarnastes tingimustes. See fenotüüp viitab sellele, et kuigi T98G rakud on transformeerunud, säilitavad nad teatud regulatiivsed mehhanismid, mis kontrollivad rakutsükli progresseerumist.

Tsütogeneetilisel on T98G rakud väga aneuploidsed, nende modaalne kromosoomide arv on 124-126, mis viitab märkimisväärsele kromosoomide ebastabiilsusele. Marker-kromosoomide ja minikromosoomide olemasolu nende karyotüübis peegeldab lisaks geneetilisi muutusi, mis on tavaliselt seotud glioblastoma multiformega. Hoolimata oma muundunud ja aneuploidsest olemusest ei ole T98G rakud alasti hiirtele süstimisel kasvajat tekitavad, mis näitab, et ainuüksi ankurdumise sõltumatus ei ole kasvajate tekkimiseks piisav.

T98G rakuliin on oluline vahend glioblastoomi progresseerumise, rakutsükli regulatsiooni ning normaalse ja transformeerunud rakkude käitumise vastastikuse mõju uurimiseks. Selle võime säilitada normaalse G1-peatumise aspekte muudab selle eriti kasulikuks mudeliks raku muundumise, rakutsükli kontrollpunktide ja glioblastoomi ravimise sihtmärkide aluseks olevate mehhanismide uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Aju

Disease Glioblastoom

Synonyms T 98 G, T-98G, T98 G, T98-G, T98-G

Omadused

Age 61 aastat

Gender Mees

Ethnicity Euroopa

Morphology Fibroblastide

T98G rakud | 305030

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation T98G (Cytioni katalooginumber 305030)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0556

Biomolekulaarsed andmed

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 40 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 tsentrifugeerige 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 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.

T98G rakud | 305030

**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.

T98G rakud | 305030

**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.