

BEAS-2B rakud | 300311**Üldine teave****Description**

BEAS-2B on immortaliseeritud rakuliin, mis on saadud mitte-kasvaja bronhide epiteelist. See rakuliin loodi inimese bronhide epiteelirakkude transformeerimise teel adenoviiruse 12-SV40 hübriidviirusega, mis annab rakkudele pikendatud eluea, säilitades samas paljud primaarsetele bronhide epiteelirakkudele iseloomulikud morfoloogilised ja funktsionaalsed omadused. BEAS-2B rakke kasutatakse laialdaselt hingamisteede haiguste uurimisel, eriti sissehingatavate ainete toksikoloogilise ja farmakoloogilise mõjuga seotud uuringutes, kuna need pärinevad hingamisteede epiteelist.

Kultiveerimisel on sellel rakuliinil koobastikmorfoloogia ja see säilitab teatavad kriitilised omadused, näiteks võime metaboliseerida ksenobiootilisi ühendeid, mis muudab need väga oluliseks ravimite metabolismi ja hingamisteede toksikoloogia uuringutes. Neid on laialdaselt kasutatud ka astma, kroonilise obstruktiivse kopsuhaiguse (KOK) ja vähi rakumehhanismide uurimisel. BEAS-2B rakud reageerivad prognoositavalt tsütokiinidele, oksüdatiivsele stressile ja muudele stiimulitele, mis on iseloomulikud hingamisteede kokkupuutele keskkonnamõjuritega. See muudab nad väärtuslikuks mudeliks põletiku ja oksüdatiivse stressi mehhanismide uurimiseks kopsurakkudes.

BEAS-2B rakke kasutatakse biomeditsiiniuuringutes sageli ka õhu kaudu levivate osakeste kantserogeensuse hindamiseks, kus nad on mudeliks, et mõista muutusi hingamisteede epiteelirakkudes pärast kokkupuudet kantserogeenidega. Nende geneetiline koostis ja vastuvõtlikkus geneetilisele manipuleerimisele suurendavad veelgi nende kasulikkust molekulaarbioloogilistes katsetes, mille eesmärk on mõista kopsuhaiguste ja vähi arenguga seotud geeniekspressiooni ja signaaliradu.

Organism Inimene**Tissue** Kopsud, bronhid**Synonyms** Beas-2B, BEAS 2B, BEAS2B, Beas2B, Ad12-SV40 2B-ga transformeeritud bronhiaalepiteel**Omadused****Age** Täpsustamata vanus**Gender** Mees**Morphology** Epiteelilaadsed**Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** BEAS-2B (Cytioni katalooginumber 300311)

BEAS-2B rakud | 300311**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0168**GMO Status** GMO-S1: See inimese bronhiaalepiteeli rakuliin (BEAS-2B) sisaldab transfektsiooni teel sissetoodud Ad12-SV40 hübriidkonstruktsiooni, mis võimaldab immortaliseerimist ilma viiruseosakeste vabanemiseta. Hübriidne adenoviiruse/SV40 insert on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Viruses** Ad12-SV40 hübriidviirus**Products** Keratiinid, SV-40 T antigeen**Töötlemine****Culture Medium** Hingamisteede epiteelirakkude baasmedium (PromoCell GmbH)**Supplements** Täiendage keskkonda kasvukeskkonna täiendusseguga (PromoCell GmbH)**Dissociation Reagent** Accutase**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.**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.

BEAS-2B rakud | 300311**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.

BEAS-2B rakud | 300311

**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.