

ACHN rakud | 300117

Üldine teave

Description

ACHN rakuliin on saadud 22-aastase valge mehe pahaloomulisest pleuraefusioonist, kellel oli laialt metastaasidega neeru adenokartsinoom. Rakuliin loodi 1979. aasta novembris, pärast vähirakkude otsest külvamist kultuurikolbidesse, mis sisaldasid Eagle'i MEM-i 10% FBS-iga. 150 päeva jooksul hoiti rakke ja paljundati neid in vitro. Seejärel siirdati rakud naha alla alasti hiirtele, kus nad moodustasid nelja nädala jooksul palpeeritavad, lokaalselt invasiivsed kasvaja. See rakuliin on tuumorigeenne, mida tõendab tema võime indutseerida kasvaja 100% alasti hiirtel (5/5), kellele siirdati 10^7 raku, kusjuures kasvaja arenesid 21 päeva jooksul.

ACHN-rakke iseloomustab adhesiivne kasvumuster ja need ekspresseerivad spetsiifilisi isoensüüme, sealhulgas G6PD (tüüp B). See rakuliin on tuntud ka oma reaktsiooni poolest inimese interferoonidele ja interferooni indutseerijatele, mis muudab selle eriti kasulikuks antiproliferatiivsetes uuringutes. Nii originaalsed ACHN-rakud kui ka alasti hiirtelt kasvajatelt taastatud rakud näitavad inimese interferoonide juuresolekul kasvu pärssimist, mis rõhutab nende potentsiaalset rakendatavust uuringutes, mis uurivad interferoonipõhiste ravimeetodite efektiivsust neeruvähi puhul.

ACHN-rakuliin on väärtuslik vahend vähiuuringutes, eriti neeru adenokartsinoomi kontekstis. See on oluline mudel kasvaja tekke, metastaatilise käitumise ja interferoonide mõju uurimiseks vähirakkude proliferatsioonile. Selle võime moodustada kasvaja in vivo ja reageerida interferoonravile pakub tugeva platvormi neerurakk-kartsinoomi suunatud uute ravivõimaluste arendamiseks ja katsetamiseks.

Organism Inimene

Tissue Neerud

Disease Adenokartsinoom

Omadused

Age 22 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Monokihiline, kleepuv

Regulatiivsed andmed

ACHN rakud | 300117

Citation	ACHN (Cytioni katalooginumber 300117)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1067

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	CAI _x - (karboanhüdraas I _x)
Protein expression	P53 positiivne
Isoenzymes	CAI _x -
Tumorigenic	Jah, alasti hiirtel

Töötlemine

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	30 tundi
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 x 10 ⁴ rakku/cm ² annab 4 päeva jooksul konfluentse monokihi.

ACHN rakud | 300117

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 24 tunni jooksul.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

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 raku suspensioon 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

ACHN rakud | 300117

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 luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

A*: '26:01:01
B*: '49:01:01
C*: '07:01:01
DRB1*: '16:01:01
DQA1*: '01:02:02
DQB1*: '05:002:01
DPB1*: '02:01:02
E: '01:03:05