

CERV-215 rakud | 300292

Üldine teave

Description

Dr. Bodgeni poolt Masoni uurimisinstituudis loodud CERV-215 rakuliin pärineb primaarsest ksenotransplantatsioonist, mida nimetatakse MRI-H215, mis on kohandatud in vivo siirdamiseks.

See rakuliin esindab epidermoidkartsinoomi agressiivset vormi, mis on liigitatud invasiivseks, suurrakuliseks, mittekeratiniseerivaks ja halvasti diferentseeritud.

Cerv-215 rakuliin on vähiuuringute jaoks keskne ressurss, eriti geneetiliste muutuste ja nende rolli uurimiseks emakakaela kantserogeensuses. Seda rakuliini iseloomustavad unikaalsed geneetilised muutused Smad4 geenis, kus teatud eksonid on asendatud teistest genoomi piirkondadest pärit järjestustega, mille tulemuseks on kärbitud ja tõenäoliselt mittefunktsionaalsete Smad4 valkude ekspressioon. Need muutused annavad ülevaate rakuliini onkogeensetest omadustest ja emakakaelavähi aluseks olevatest molekulaarsetest mehhanismidest.

MRI-215 on HPV45-positiivne, kuid selle Smad4-geeni muutused on sõltumatud HPV-integratsioonist, mis viitab sellele, et lisaks viiruse mõjudele on vähi arengule kaasa aidanud geneetiliste tegurite keerukas koostoime. See rakuliin on hindamatu väärtusega vahend teadlastele, kes keskenduvad vähi geneetiliste aspektidele, Smad4 rollile kasvaja progresseerumises ning inimese papilloomiviiruse ja peremehe rakumehhanismide vahelisele koostoimele.

MRI-H215 pakub ainulaadset platvormi emakakaelavähi keerukuse uurimiseks molekulaarsel tasandil, mistõttu on see oluline osa vähiuuringute laboratooriumides, mille eesmärk on avastada uusi terapeutilisi sihtmärke ja mõista kasvaja teke geneetilisi aluseid.

Organism Inimene

Tissue Emakakael

Disease Kartsinoom

Synonyms Cerv-215, MRI-H-215, MRI-H215

Omadused

Age 39 aastat

Gender Naised

Ethnicity Aafrika

Morphology Epiteelilaadsed

Cell type Epidermoid

CERV-215 rakud | 300292

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation CERV-215 (Cytioni katalooginumber 300292)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5722

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Jah, alasti hiirtel

Viruses HPV-16 negatiivne

Products Tsütokeratiin 8, 18, vimentiin

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

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 Soovitav on 1×10^4 rakku/cm².

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

CERV-215 rakud | 300292**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 katalooginumber 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 rakususpensioon 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

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 vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

CERV-215 rakud | 300292

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*: '02:01, '03:01

B*: '35:08:00, '40:01:00

C*: '03:04, '04:01