

HS-695T rakud | 300211

Üldine teave

Description

HS-695T rakuliin on saadud inimese melanoomist, mis on nahavähi tüüp, mida iseloomustab melanotsüütide pahaloomuline muundumine. Need rakud saadi algselt täiskasvanud patsiendilt ja neid on sellest ajast saadik laialdaselt kasutatud melanoomi bioloogia, kasvajate tekke ja vähi metastaaside uurimisel. HS-695T rakuliinil on melanoomi põhilised omadused, sealhulgas võime kiiresti paljuneda ja moodustada kasvajat, kui see siirdatakse immuunpuudulikkude hiirtesse. See rakuliin säilitab paljud algse kasvaja molekulaarsed ja geneetilised omadused, mis teeb sellest väärtusliku mudeli melanoomi progresseerumise aluseks olevate mehhanismide uurimiseks ja võimalike raviainete testimiseks.

HS-695T rakud ekspresseerivad erinevaid melanoomiga seotud markereid, sealhulgas Melan-A, türosinaasi ja HMB-45, mida tavaliselt kasutatakse melanotsüütide kasvajate identifitseerimiseks ja uurimiseks. Nendel rakkudel on teadaolevalt ka mutatsioonid sellistes geenides nagu BRAF ja NRAS, mida melanoomi puhul sageli täheldatakse ja mis aitavad kaasa onkogeensetele signaaliradadele, mis juhivad kasvaja kasvu ja ellujäämist. Teadlased kasutavad HS-695T rakuliini, et uurida sihtotstarbeliste ravimeetodite, sealhulgas BRAFi ja MEKi inhibiitorite mõju ning uurida resistentsuse tekkimist nende ravimeetodite suhtes. Üldiselt on HS-695T rakuliin kriitilise tähtsusega vahend melanoomi uurimisel, aidates kaasa uute ravistrateegiade avastamisele ja parandades meie arusaamist sellest agressiivsest vähktõvest.

Organism

Inimene

Tissue

Nahk

Disease

Amelanootiline melanoom

Metastatic site

Lümfisõlm

Synonyms

Hs 695.T, Hs-695-T, Hs 695T, HS 695T, Hs695T, HS695T, HS695T, Hs695

Omadused

Age

26 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

Epiteelilaadsed

Growth properties

Kinnipeetav

HS-695T rakud | 300211

Regulatiivsed andmed

Citation	HS-695T (Cytioni katalooginumber 300211)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0851

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression	P53 positiivne
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, fenotüübi sageduse toode: 0.0427
Tumorigenic	Jah, immuunsupressiooniga hiirtel
Mutational profile	BRAF V600Emut
Karyotype	(P19-40) režiim = 52, Y-kromosoomi olemasolu

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
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.

HS-695T rakud | 300211

Seeding density 2×10^4 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 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 viaal 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 viaali 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 viaali 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.

HS-695T rakud | 300211

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

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.