

Клетки EBC-1 | 305539

Обща информация

Description

EBC-1 е човешка клетъчна линия за плоскоклетъчен карцином на белия дроб, която се отличава най-вече с важността си за изучаване на механизмите, свързани с рака на белия дроб, особено с недребноклетъчния белодробен карцином (NSCLC). Тази клетъчна линия се характеризира с амплификация на гена MET, който е замесен в онкогенни сигнални пътища, които стимулират туморния растеж и резистентността към терапия. Активирането на MET рецепторната тирозин киназа, обикновено индуцирано от хепатоцитния растежен фактор (HGF), играе значителна роля за пролиферацията, оцеляването и метастазирането на тези клетки. Аберациите в сигнализацията на MET са от основно значение за агресивния туморен профил на EBC-1, което го превръща в основен модел за изучаване на целеви терапии, насочени към инхибиране на MET.

Изследванията, в които се използват клетките на EBC-1, проучват различни механизми на резистентност към инхибитори на MET, като например кризотиниб. Клетъчната линия демонстрира придобита резистентност чрез пътища, включващи повишаване на PAI-1 и преход от епител към мезенхим (EMT), което допринася за терапевтичните предизвикателства. Освен това е доказано, че натриевият бутират модулира генната експресия в клетките на EBC-1, което показва потенциалната полезност на инхибиторите на хистон деацетилазата за повлияване на генната транскрипция. Тези констатации подчертават значението на EBC-1 както в изследванията на терапевтичната резистентност, така и в разработването на нови стратегии за лечение на белодробен рак с MET-амплификация.

Organism

Човек

Tissue

Бял дроб

Disease

Плоскоклетъчен карцином

Metastatic site

Кожа

Synonyms

EBC-1/оригинал, EBC1

Характеристики

Age

69 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Тайвански

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Клетки EBC-1 | 305539

Citation EBC-1 (каталожен номер 305539 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2891

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация: Thr681Ile (с.2042C>T), хетерозиготен; Мутация: EGFR, p.Leu858Arg (с.2573T>G), хетерозиготна; Мутация: TP53, p.Glu171Ter (с.511G>T), хомозиготна

Работа с

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки EBC-1 | 305539

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки EBC-1 | 305539

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.