

Buňky SF188 | 305870

Obecné informace

Description

Buněčná linie SF188 je model lidského glioblastomu multiforme (GBM) získaný od dětského pacienta. Je široce využívána ke studiu mechanismů rezistence na chemoterapii, zejména na alkylační činidla, jako je 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosomočovina (BCNU). Ve srovnání s jinými buněčnými liniemi odvozenými z gliomů, jako je SF126, vykazuje SF188 výrazně vyšší rezistenci vůči cytotoxicitě a genotoxicitě vyvolané BCNU. Konkrétně vykazuje SF188 přibližně trojnásobně vyšší rezistenci v testech přežití a 14krát nižší náchylnost k BCNU-indukované výměně sesterských chromatid (SCE), což naznačuje fenotyp s robustní tolerancí k poškození DNA.

Odolnost linie SF188 je připisována zvýšené schopnosti opravy DNA, zejména rychlému a účinnému odstraňování aduktů O⁶-alkylguaninu. Při expozici metylačním činidly, jako je N-methyl-N-nitrosomočovina, vykazuje buňky SF188 výrazné odstranění lézí O⁶-methylguaninu, zatímco citlivější buněčné linie vykazují minimální reparační aktivitu. Tato účinná oprava lézí pravděpodobně zabraňuje tvorbě meziretažcových křížových vazeb, čímž udržuje genomovou integritu a zvyšuje přežití buněk. Důležité je, že SF188 vykazuje také vysoký počet chromozomů (modální počet 91) a postrádá expresi kyselého fibrilárního proteinu glií (GFAP), což potvrzuje jeho původ v málo diferencovaném gliomu a činí z něj vynikající model pro studium vzájemného působení mezi opravou DNA a chemorezistencí u vysoce maligních gliomů.

Organism

Člověk

Tissue

Mozek, pravý čelní lalok

Disease

Glioblastom

Synonyms

SF-188, SF 188

Charakteristika

Age

8 let

Gender

Muži

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

SF188 (katalogové číslo Cytion 305870)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Buňky SF188 | 305870

CellosaurusAccession CVCL_6948

Biomolekulární data

Mutational profile Mutace: TP53, jednoduchá, p.Gly266Glu (c.797G>A), homozygotní (PubMed=9614553, PubMed=10416987).

Zpracování

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO₃, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

Supplements Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 26 hodin

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Seeding density 2 až 4 × 10⁴ buněk/cm²

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky SF188 | 305870

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Buňky SF188 | 305870

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.