Product sheet

Buňky CCD-1095Sk | 300642

Obecné informace

Description	CCD-1095Sk je buněčná linie fibroblastů odvozená z kůže lidského muže. Byla vytvořena z biopsie nezasažené kůže odebrané pacientovi, který měl dlaždicobuněčný karcinom. Tato buněčná linie se využívá především ve studiích, které zkoumají interakce mezi kožními buňkami a nádorovými buňkami, zejména to, jak mohou nenádorové buňky v nádorovém mikroprostředí ovlivňovat růst a progresi nádoru. Buněčná linie CCD-1095Sk je proto cenná pro výzkum rakoviny, konkrétně pro pochopení stromálních aspektů rakoviny kůže. Buňky CCD-1095Sk vykazují morfologii fibroblastů, která je charakterizována vřetenovitou, protáhlou formou typickou pro buňky pojivové tkáně, které produkují složky extracelulární matrix nezbytné pro opravu tkáně a strukturální integritu. Tyto buňky jsou adherentní, rostou v monovrstvách a jsou známé svou odolností v různých experimentálních podmínkách in vitro. Používají se k modelování chování fibroblastů v normální kůži a ke zkoumání změn aktivity fibroblastů za nádorových podmínek, které mohou zahrnovat sekreci růstových faktorů, cytokinů a matrixových metaloproteináz. Jako takové poskytují neocenitelný nástroj pro farmakologické studie a vývoj terapeutických strategií zaměřených na nádorové prostředí.
Organism	Člověk
Tissue	Kůže
Disease	Duktální karcinom
Applications	3D buněčná kultura
Synonyms	CCD1095Sk

Charakteristika

Age	37 let
Gender	Ženy
Morphology	Fibroblasty
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	CCD-1095Sk (katalogové číslo Cytion 300642)
Biosafety level	1

Buňky CCD-1095Sk | 300642

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2344

Biomolekulární data

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
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 odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
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 CCD-1095Sk | 300642

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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 odstřeďujte 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 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	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.
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 a molekulární analýza

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 vizuálním kontrolám.