

SF188-celler | 305870

Generel information

Description

SF188-cellelinjen er en model for humant glioblastoma multiforme (GBM), der er etableret ud fra en pædiatrisk patient. Den anvendes i vid udstrækning til at undersøge mekanismerne bag kemoterapeutisk resistens, især over for alkyleringsmidler såsom 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU). Sammenlignet med andre gliom-afledte cellelinjer såsom SF126 udviser SF188 en signifikant højere resistens over for BCNU-induceret cytotoxicitet og genotoksicitet. Mere specifikt udviser SF188 en ca. tredobbelt større resistens i overlevelsesassays og en 14 gange lavere følsomhed over for BCNU-induceret søsterkromatidudveksling (SCE), hvilket indikerer en robust fænotype med hensyn til tolerance over for DNA-skader.

Resistensen i SF188 tilskrives en forbedret DNA-reparationskapacitet, især den hurtige og effektive fjernelse af O⁶-alkylguanⁱⁿ-addukter. Ved eksponering for metyleringsmidler som N-methyl-N-nitrosourea udviser SF188-celler en markant fjernelse af O⁶-methylguanin-læsioner, mens mere følsomme cellelinjer kun viser minimal reparationsaktivitet. Denne effektive læsionsreparation forhindrer sandsynligvis dannelsen af tværbindinger mellem DNA-strengene, hvilket derved opretholder den genomiske integritet og øger cellernes overlevelse. Vigtigt er det, at SF188 også udviser et højt kromosomantal (modalt antal 91) og mangler ekspresion af glialfibrillært surt protein (GFAP), hvilket bekræfter dets dårligt differentierede gliomoprindelse og gør det til en fremragende model til at studere samspillet mellem DNA-reparation og kemoresistens i højgradige gliomer.

Organism Menneske

Tissue Hjernen, højre frontallap

Disease Glioblastom

Synonyms SF-188, SF 188

Karakteristika

Age 8 år

Gender Mand

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation SF188 (Cytion-katalognummer 305870)

Biosafety level 1

SF188-celler | 305870

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6948

Biomolekylære data

Mutational profile Mutation: TP53, enkel, p.Gly266Glu (c.797G>A), homozygot (PubMed=9614553, PubMed=10416987).

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 26 timer**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Seeding density** 2 til 4×10^4 cell^{er}/cm²**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

SF188-celler | 305870

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opbevaring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

SF188-celler | 305870

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.