Product sheet

EFM-19 rakud | 305540

Üldine teave

Description	EFM-19 on östrogeeniretseptor-positiivne (ER+) inimese rinnavähi rakuliin, mida on kasutatud östrogeeni ja antiöstrogeenide, näiteks tamoksifeeni, mõju uurimiseks geenikespressioonile. See rakuliin reageerib tugevalt östrogeeni stimuleerimisele, mis mõjutab mitmesuguste östrogeenireguleeritud RNA-de ekspressiooni. Tähelepanuväärne on, et EFM-19 rakkudes ekspresseeritakse östrogeeniretseptori mRNA-d suuremas koguses võrreldes teiste rinnavähi rakuliinidega, nagu MCF-7. EFM-19-ga seotud uuringud on toonud esile selle unikaalse östrogeenireguleeritud RNA ekspressiooni profiili. Näiteks on näidatud, et östradiool indutseerib selliste RNA-de ekspressiooni nagu pNR-1, pNR-2, pNR-25 ja pNR-100. See indutseerimine ulatub mõõdukast (pNR-100 puhul 3-kordne) kuni märkimisväärseni (pNR-2 puhul üle 100-kordne). Huvitaval kombel on nende RNA-de reaktsioon tamoksifeenile erinev; kuigi tamoksifeen toimib mõnede RNA-de (nt pNR-1) puhul osalise östrogeeni agonistina, on selle toime teiste puhul (nt pNR-2) väiksem. Seetõttu on see rakuliin väärtuslik östrogeeni ja antiöstrogeenide erinevate mõjude uurimiseks geeniregulatsioonile. EFM-19 rakke tunnustatakse ka nende rakendamise poolest uuringutes, mis uurivad östrogeeni laiemat rolli rinnavähi bioloogias. Nende ekspressiooniprofiilid aitavad mõista, kuidas östrogeen ja östrogeeniretseptori signaalimine mõjutavad kasvajate teket ja ravivastust. See rakuliin, koos teistega nagu MCF-7, aitab lahti harutada östrogeenist tingitud mehhanisme, pakkudes potentsiaalselt teavet ravistrateegiatele, mis hõlmavad hormoonipõhiseid sekkumisi.
Organism	Inimene
Tissue	Rind
Disease	Rinnanäärme duktaalne kartsinoom
Metastatic site	Pleuraefusioon
Synonyms	EFM19

Omadused

Age	50 aastat
Gender	Naised
Morphology	Epiteelilaadsed
Growth properties	Kinnipeetav

EFM-19 rakud | 305540

Regulatiivsed andmed

Citation	EFM-19 (Cytioni kataloognumber 305540)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0253

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression	HER2+, ER++, AR++, PR++
Mutational profile	Mutatsioon: PIK3CA, p.His1047Leu (c.3140A>T), homosügootne; Mutatsioon: TP53, p.His193Arg (c.578A>G), homosügootne

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada keskkonda 20% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.
Seeding density	4–6 × 10^4/cm^2
Fluid renewal	Jagage kokkuvoolavat kultuuri kaks korda nädalas.

EFM-19 rakud | 305540

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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.
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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.