

SF188 rakud | 305870

Üldine teave

Description

Rakuliin SF188 on inimese glioblastoma multiforme'i (GBM) mudel, mis on loodud ühe lastepatsiendi põhjal. Seda kasutatakse laialdaselt kemoteeraapiaresistentsuse mehhanismide uurimiseks, eriti alküülivate ainete, nagu 1,3-bis(2-kloroetüül)-1-nitrosoürea (BCNU), suhtes. Võrreldes teiste glioomist pärinevate rakuliinidega, nagu SF126, näitab SF188 märkimisväärselt suuremat resistentsust BCNU poolt indutseeritud tsütotoksilisuse ja genotoksilisuse suhtes. Täpsemalt näitab SF188 ellujäämiskatsetes ligikaudu kolmekordset resistentsust ja 14-kordset madalamat vastuvõtlikkust BCNU-st tingitud öekromatiidide vahetusele (SCE), mis viitab tugevale DNA-kahjustuste taluvuse fenotüübile.

SF188 resistentsust seostatakse täiustatud DNA-parandusvõimega, eriti O⁶-alküülguaniini aduktide kiire ja tõhusa eemaldamisega. N-metüül-N-nitrosoürea-taoliste metüleerivate ainete mõjul eemaldavad SF188 rakud märkimisväärselt O⁶-metüülguaniini kahjustusi, samas kui tundlikumad rakuliinid näitavad minimaalset parandustegevust. See tõhus kahjustuste parandamine tõenäoliselt takistab ahelatevaheliste ristseoste teket, säilitades seeläbi genoomi terviklikkust ja suurendades rakkude ellujäämist. Oluline on ka see, et SF188-l on suur kromosoomide arv (modaalne arv 91) ja sellel puudub gliaalsete fibrillaarsete happeliste valkude (GFAP) ekspressioon, mis kinnitab selle halvasti diferentseeritud glioomi päritolu ja teeb sellest suurepärase mudeli DNA-parandamise ja kemoresistentsuse vastastikuse mõju uurimiseks kõrge astme glioomides.

Organism Inimene

Tissue Aju, parem eesmine ajupoolkera

Disease Glioblastoom

Synonyms SF-188, SF 188

Omadused

Age 8 aastat

Gender Mees

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation SF188 (Cytioni katalooginumber 305870)

Biosafety level 1

SF188 rakud | 305870

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6948

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: TP53, lihtne, p.Gly266Glu (c.797G>A), homosügootne (PubMed=9614553, PubMed=10416987).

Töötlemine

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAGA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 26 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel 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** $2-4 \times 10^4$ rakku/cm²**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

SF188 rakud | 305870

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage vialid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ juures. Säilitamine temperatuuril $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

SF188 rakud | 305870

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.