Product sheet

EFM-19-solut | 305540

Yleisiä tietoja

Description	EFM-19 on estrogeenireseptoripositiivinen (ER+) ihmisen rintasyöpäsolulinja, jota on käytetty tutkimaan estrogeenin ja antiestrogeenien, kuten tamoksifeenin, vaikutuksia geenien ilmentymiseen. Tämä solulinja reagoi voimakkaasti estrogeenistimulaatioon, joka säätelee erilaisten estrogeenin säätelemien RNA-molekyylien ilmentymistä. Erityisesti on huomattava, että EFM-19-soluissa ilmentyy enemmän estrogeenireseptorin mRNA:ta kuin muissa rintasyöpäsolulinjoissa, kuten MCF-7:ssä. EFM-19:ää koskevassa tutkimuksessa on korostettu sen ainutlaatuista estrogeenin säätelemän RNA:n ilmentymisprofiilia. Esimerkiksi on osoitettu, että estradioli indusoi RNA:ita, kuten pNR-1, pNR-2, pNR-25 ja pNR-100. Tämä induktio vaihtelee kohtalaisesta (3-kertaiseksi pNR-100:n osalta) merkittävään (yli 100-kertaiseksi pNR-2:n osalta). Mielenkiintoista on, että näiden RNA:iden vaste tamoksifeenille vaihtelee; vaikka tamoksifeeni toimii osittaisena estrogeeniagonistina joillekin RNA:ille (esim. pNR-1), sen teho on heikompi toisille (esim. pNR-2). Tämä solulinja on siten arvokas tutkittaessa estrogeenin ja antiestrogeenien erilaisia vaikutuksia geenien säätelyyn. EFM-19-solut ovat merkittäviä myös niiden soveltamisessa tutkimuksessa, jossa selvitetään estrogeenin laajempia rooleja rintasyövän biologiassa. Niiden ilmentymisprofiilit auttavat ymmärtämään, miten estrogeeni ja estrogeenireseptorin signalointi vaikuttavat kasvaimen syntyyn ja hoitovasteisiin. Tämä solulinja auttaa yhdessä muiden, kuten MCF-7:n, kanssa selvittämään estrogeenin ohjaamia mekanismeja, mikä voi tarjota tietoa hormonihoitoja sisältäville hoitostrategioille.
Organism	Ihminen
Tissue	Rinta
Disease	Rinnan duktaalinen karsinooma
Metastatic site	Pleuraeffuusio
Synonyms	EFM19

Ominaisuudet

Age	50 vuotta
Gender	Nainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Tarttuva

EFM-19-solut | 305540

Sääntelytiedot

Citation	EFM-19 (Cytionin tuotenumero 305540)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0253

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 20 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	4–6 × 10^4/cm^2
Fluid renewal	Jaa yhtenäinen viljelmä kaksi kertaa viikossa.

EFM-19-solut | 305540

Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.