

SF188-kennot | 305870

Yleisiä tietoja

Description

SF188-solulinja on lapsipotilaalta peräisin oleva ihmisen glioblastoma multiforme (GBM) -malli. Sitä käytetään laajasti kemoterapeuttisen resistenssin mekanismien tutkimiseen, erityisesti alkyloivien aineiden, kuten 1,3-bis(2-kloorietyyli)-1-nitroso-urea (BCNU), osalta. Verrattuna muihin glioomasta peräisiin oleviin solulinjoihin, kuten SF126:een, SF188 osoittaa huomattavasti suurempaa resistenssiä BCNU:n aiheuttamaa sytotoksisuutta ja genotoksisuutta vastaan. Tarkemmin sanottuna SF188 osoittaa noin kolminkertaista vastustuskykyä eloonjäämiskokeissa ja 14-kertaista alhaisempaa alttiutta BCNU:n aiheuttamalle sisarkromatidien vaihtumiselle (SCE), mikä viittaa vahvaan DNA-vaurion sietokykyfenotyyppiin.

SF188:n resistenssi johtuu parantuneesta DNA:n korjauskyvystä, erityisesti O⁶-alkyliguaaniini-adduktien nopeasta ja tehokkaasta poistamisesta. Altistuessaan metyloiville aineille, kuten N-metyyli-N-nitroso-urea, SF188-solut poistavat merkittävästi O⁶-metyyliguaaniinivaurioita, kun taas herkimmät solulinjat osoittavat vain vähäistä korjausaktiivisuutta. Tämä tehokas vaurioiden korjaus estää todennäköisesti säikeiden välisten ristisidosten muodostumisen, mikä ylläpitää genomien eheyttä ja lisää solujen eloonjäämistä. Merkittävää on, että SF188-solulinjalla on myös suuri kromosomimäärä (modaaliluku 91) ja että siinä ei ilmenty gliofibrillaarista happamaa proteiinia (GFAP), mikä vahvistaa sen huonosti erilaistuneen gliooman alkuperän ja tekee siitä erinomaisen mallin korkea-asteisten gliomien DNA-korjauksen ja kemoresistenssin välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Aivot, oikea otsalohko

Disease Glioblastooma

Synonyms SF-188, SF 188

Ominaisuudet

Age 8 vuotta

Gender Mies

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation SF188 (Cytion-tuotenumero 305870)

Biosafety level 1

SF188-kennot | 305870

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6948

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile Mutaatio: TP53, yksinkertainen, p.Gly266Glu (c.797G>A), homotsygoottinen (PubMed=9614553, PubMed=10416987).

Käsittely

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 26 tuntia

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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density $2-4 \times 10^4$ solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

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

SF188-kennot | 305870

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

SF188-kennot | 305870

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.