Product sheet

SCaBER-solut | 305111

Yleisiä tietoja

Description	SCaBER-solulinja on peräisin ihmisen virtsarakon levyepiteelisolusyövästä. Solulinja on peräisin 58-vuotiaalta miespotilaalta, ja siinä on säilynyt monia alkuperäisen kasvaimen piirteitä, mukaan luettuna sen levyepiteelimäinen erilaistuminen. SCaBER-soluilla on selvä epiteelimorfologia, jossa on selviä solujen välisiä yhteyksiä, kuten desmosomeja ja toisiinsa kiinnittyneitä mikrovilloja. Nämä ominaisuudet tekevät siitä erinomaisen mallin virtsarakon okasolusyövän patologian ja etenemisen tutkimiseen. SCaBER-soluilla on hypotetraploidinen karyotyyppi, jossa kromosomiluku vaihtelee suuresti ja jossa esiintyy erottuvia merkkikromosomeja. Uroksen karyotyyppi sisältää sekä X- että Y-kromosomeja, mikä erottaa sen edelleen muista solulinjoista. Ultrastruktuuritutkimukset paljastavat runsaasti tonofilamentteja, lipidikappaleita ja hyvin kehittyneitä organelleja, kuten Golgin laitteisto ja karkea endoplasminen retikulum. Nämä ominaisuudet ovat säilyneet useiden läpikäyntien aikana, mikä takaa johdonmukaisuuden pitkäaikaistutkimuksia varten. Tätä solulinjaa on hyödynnetty immunologisessa tutkimuksessa, jossa on tutkittu kasvainspesifisiä antigeenejä ja niiden merkitystä virtsarakon syövän etenemisessä. SCaBER:n levyepiteelin erilaistuminen on avaintekijä levyepiteelisolusyöpien kasvaimiin liittyvien antigeenien tutkimuksissa, mikä tarjoaa tietoa mahdollisista diagnostisista merkkiaineista ja terapeuttisista kohteista. Sen hyvin karakterisoidut molekyyli- ja fenotyyppiset ominaisuudet tekevät siitä kriittisen resurssin urologisen syövän tutkimuksessa.
Organism	Ihminen
Tissue	Virtsarakko
Disease	Virtsarakon levyepiteelisyöpä
Synonyms	SCABER, Scaber

Ominaisuudet

Age	58 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Afrikkalainen
Morphology	Epiteeli
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

SCaBER-solut | 305111

Citation	SCaBER (Cytionin tuotenumero 305111)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3599

Biomolekyylitiedot

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
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.
Split ratio	1:2 – 1:5
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
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.

SCaBER-solut | 305111

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.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	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.
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.