Product sheet

CCD-1095Sk-solut | 300642

Yleisiä tietoja

Description	CCD-1095Sk on fibroblastisolulinja, joka on peräisin miehen ihosta. Se on muodostettu biopsiasta, joka on otettu potilaalta, jolla oli levyepiteelisyöpä. Tätä solulinjaa käytetään ensisijaisesti tutkimuksissa, joissa tutkitaan ihosolujen ja syöpäsolujen välisiä vuorovaikutuksia ja erityisesti sitä, miten kasvaimen mikroympäristön muut kuin syöpäsolut voivat vaikuttaa kasvaimen kasvuun ja etenemiseen. CCD-1095Sk-solulinja on näin ollen arvokas syöpätutkimuksessa, erityisesti ihosyövän stroomaan liittyvien näkökohtien ymmärtämisessä. CCD-1095Sk-soluilla on fibroblastien morfologia, jolle on ominaista sidekudossoluille tyypillinen karamellimainen, pitkänomainen muoto, joka tuottaa solunulkoisen matriisin komponentteja, jotka ovat välttämättömiä kudoksen korjaamisen ja rakenteellisen eheyden kannalta. Nämä solut ovat tarttuvia, kasvavat monolayereissä ja ovat tunnettuja kestävyydestään erilaisissa in vitro -koeolosuhteissa. Niitä käytetään fibroblastien käyttäytymisen mallintamiseen normaalissa ihossa ja fibroblastien toiminnan muutosten tutkimiseen syöpäolosuhteissa, joihin voi sisältyä kasvutekijöiden, sytokiinien ja matriksin metalloproteinaasien eritystä. Sellaisenaan ne ovat korvaamaton väline farmakologisia tutkimuksia ja kasvainympäristöön kohdistuvien hoitostrategioiden kehittämistä varten.
Organism	Ihminen
Tissue	Iho
Disease	Duktaalinen karsinooma
Applications	3D-soluviljely
Synonyms	CCD1095Sk

Ominaisuudet

Age	37 vuotta
Gender	Nainen
Morphology	Fibroblastit
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	CCD-1095Sk (Cytionin luettelonumero 300642)

CCD-1095Sk-solut | 300642

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2344

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.
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.

CCD-1095Sk-solut | 300642

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.