

ASB-XIV-kennot | 400120

Yleisiä tietoja

Description

Balb/c-hiiren naaraasta peräisin olevat ASB-xIV-solut jäljittelevät tarkasti hiiren keuhkosolujen krysotiiliasbestin aiheuttamaa suurisoluista karsinoomaa. Nämä solut ovat yksikerroksisia ja epiteelimorfologialtaan tarttuvia, mikä tekee niistä esimerkillisen mallin primaarisen okasolusyövän (PSCC) tutkimukseen. Niiden rakenteellisten ja toiminnallisten ominaisuuksien vuoksi ne soveltuvat erityisen hyvin PSCC:n taustalla olevien soluprosessien ja patologisten mekanismien yksityiskohtaisiin tutkimuksiin.

ASB-xIV-solulinjaa luonnehditaan "tulehtuneeksi" tai "kuumaksi" kasvaimeksi, mikä viittaa siihen, että se on hyvin immuunisolujen infiltroima, mikä tekee siitä immunoterapiaan herkemmän. Tämä herkkyys on ratkaisevan tärkeää, kun ASB-xIV-soluja käytetään immuunitarkistuspistehoitojen (ICT) tehokkuuden arvioinnissa. Nämä solut ovat osoittaneet merkittävää reagoitokykyä tällaisiin hoitoihin, mikä tekee niistä korvaamattomia immunoterapian tehoon keskittyvässä onkologisessa tutkimuksessa. Lisäksi retinoidit ovat hillinneet tehokkaasti näiden solujen kasvua hiirille siirrettyissä karsinoomissa, mutta C-vitamiinilla ei ole ollut vastaavaa vaikutusta. Vaikka ASB-xIV-solut kaksinkertaistuvat hitaasti, noin 70 tuntia, niiden kasvu on vankkaa ja vakaata, mikä on ratkaisevan tärkeää, jotta voidaan luoda johdonmukaisia ja luotettavia in vitro -viljelmiä, jotka ovat välttämättömiä kokeiden toistettavuuden kannalta.

Organism

Hiiri

Tissue

Keuhkot

Disease

Keuhkojen okasolusyöpä

Ominaisuudet

Age

Aikuiset

Gender

Määrittelemätön

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

ASB-xIV (Cytionin luettelonumero 400120)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

ASB-XIV-kennot | 400120

CellosaurusAccession CVCL_5686

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic Kyllä, Balb/c-hiirissä**Viruses** MAP-testi: Negatiivinen (Sendai, Ektromelie, Polyoma, K-virus, Kilham, Reo 3, PVM, LCM, M.pulmonis, MVM, Theilerin GD VII, Toolanin H-1, MHV, LDV, RCV/SDA, M-Adenovirus, B.piliformis).

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 70 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** Suositeltava siemen tiheys on 1×10^4 solua/cm².**Fluid renewal** 3-5 päivän välein**Post-Thaw Recovery** Anna solujen tarttua vähintään 24-48 tuntia.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelunumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

ASB-XIV-kennot | 400120

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 tarttuvaa, 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.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

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.

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.

ASB-XIV-kennot | 400120

**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

Sterility

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

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