

C-33 A Solut | 305072

Yleisiä tietoja

Description

C-33 A-solut ovat peräisin kohdunkaulan kudoksesta 66-vuotiaalta valkoihoiselta naiselta, jolla on diagnosoitu kohtusyöpä. Tälle solulinjalle on ominaista ainutlaatuinen geneettinen muutos TP53-geenissä, jossa pistemutaatio koodonissa 273 johtaa arginiinin vaihtumiseen kysteiniiksi, mikä johtaa p53-proteiinin lisääntyneeseen ilmentymiseen. Tällä mutaatiolla on ratkaiseva merkitys solujen patofysiologiassa, sillä se vaikuttaa niiden kasvuominaisuuksiin ja kasvainpotentiaaliin.

Eryteisesti C-33 A-solujen on vahvistettu olevan tumorigeenisiä. Kun nämä solut siirretään immuunipuutteisiin alastomiin hiiriin, ne kykenevät muodostamaan erilaistumattomia karsinomia, mikä korostaa niiden käyttökelpoisuutta syöpätutkimuksessa, erityisesti tutkimuksissa, joilla pyritään ymmärtämään kohdunkaulan syövän kasvainten syntymisen ja etenemisen mekanismeja. Lisäksi nämä solut ovat negatiivisia sekä ihmisen papillomaviruksen (HPV) DNA:n että RNA:n suhteen, mikä erottaa ne monista muista kohdunkaulan syövän solulinjoista, joissa on usein HPV-integraatioita. Tämä tekee C-33 A-soluista erityisen arvokkaita tutkittaessa kohdunkaulan syöpää, joka kehittyy HPV-infektiosta riippumatta, ja tarjoaa tietoa vaihtoehtoisista karsinogeneesireiteistä.

Organism Ihminen

Tissue Kohdunkaula

Disease Kohdunkaulan kohdunkaulan levyepiteelisyöpä

Synonyms C33A, C33a, C33-A, C-33-A, C-33A, C-33A, C33

Ominaisuudet

Age 66 vuotta

Gender Nainen

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation C33A (Cytionin luettelonumero 305072)

Biosafety level 1

C-33 A Solut | 305072**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1094**Biomolekyylitiedot****Protein expression** Onkogeenit: P53 , Prb**Tumorigenic** Kyllä**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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**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.

C-33 A Solut | 305072

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 $300 \times g$: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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

C-33 A Solut | 305072

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.