

AT-1-solut | 500121

Yleisiä tietoja

Description

AT-1-solulinja on R3327-rotan eturauhasen adenokarsinoomasolulinjan alaklooni. Tämä solulinja on peräisin Dunning-mallista, joka on vakiintunut malli, jota käytetään eturauhassyövän tutkimiseen. AT-1-alkloonille on ominaista sen suhteellisen hidas kasvuvauhti ja alhainen metastaattinen potentiaali verrattuna muihin samasta kasvaimesta johdettuihin alaklooneihin, kuten MatLyLu- (korkea metastaattinen potentiaali) ja AT-2-solulinjoihin (kohtalainen metastaattinen potentiaali). Tämän vuoksi AT-1-solulinja on erityisen hyödyllinen tutkimuksissa, joissa keskitytään ei-metastaattisten tai minimaalisesti invasiivisten kasvainten biologiaan.

AT-1-solulinjaa on käytetty tutkimuksessa laajasti eturauhassyövän etenemismekanismien tutkimiseen ja terapeuttisten aineiden tehon arviointiin. Soluilla on yleensä kuutiomainen morfologia ja ne ovat tarttuvia. Niiden on osoitettu reagoivan hormonaalisiin manipulaatioihin, mikä jäljittelee kliinisessä eturauhassyövässä esiintyviä hormonaalisia vasteita. AT-1-solulinjalla tehdyt tutkimukset ovat auttaneet ymmärtämään paremmin kasvainsolujen ja mikroympäristön välisiä vuorovaikutuksia, angiogeneesiä ja syövän etenemiseen liittyviä molekyylireitettä. Tärkeää on, että AT-1-solulinja on ollut arvokas väline kehitettäessä terapeuttisia strategioita, jotka eivät keskity niinkään etäpesäkkeisiin kuin primaarikasvaimen kasvuun ja paikalliseen invaasioon.

Organism

Rotta

Tissue

Eturauhanen

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

R-3327-AT-1, AT1, AT-1-TC, Dunning R-3327 AT-1, R3327-AT1

Ominaisuudet

Morphology

Epiteelin kaltainen

Growth properties

Adherent. Solut muodostavat klustereita pehmeässä agarissa, ja ne voidaan sopeuttaa suspensiokasvatukseen

Säätelytiedot

Citation

AT-1 (Cytionin luettelonumero 500121)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

CellosaurusAccession

CVCL_3568

AT-1-solut | 500121

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic Kyllä, rotilla ja alastomilla hiirillä

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

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.

Seeding density 1×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 4×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua jäädyttämisprosessista ja kiinnittyä vähintään 48 tunnin ajan.

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.

AT-1-solut | 500121

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.

AT-1-solut | 500121

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.