

T98G-solut | 305030

Yleisiä tietoja

Description

T98G-solulinja on 61-vuotiaasta miespotilaasta peräisin oleva ihmisen glioblastooma multiforme -malli. Se perustettiin tutkimaan kasvainten synnyn, solujen proliferaation ja transformaation molekyylimekanismeja. T98G-soluissa on ainutlaatuinen yhdistelmä sekä normaaleja että muuntuneita solujen ominaisuuksia, mikä tekee niistä arvokkaan mallin syövän biologian tutkimiseen. Vaikka T98G-solut ovat kuolemattomia ja kykenevät ankkuroitumisesta riippumattomaan kasvuun, ne säilyttävät kyvyn pysähtyä G1-vaiheeseen pysähtymisolosuhteissa, mikä on ominaisuus, joka tyypillisesti liittyy normaaleihin soluihin.

Kasvuominaisuuksiltaan T98G-solut ovat ankkuroitumisriippumattomia, mikä näkyy niiden kyvyssä muodostaa pesäkkeitä metyyliiselluloosassa, joka on puolikiinteä väliaine. Toisin kuin monet muunnetut solulinjat, ne pysähtyvät kuitenkin solusyklin G1-vaiheeseen, kun ne altistetaan suurelle solutiheydelle tai alhaiselle seerumipitoisuudelle. Tämä ainutlaatuinen kyky G1-pysähtyä näissä olosuhteissa erottaa T98G:n muista syöpäsolulinjoista, kuten HeLa-soluista tai T98-alkuperäsoluista, jotka jatkavat lisääntymistään vastaavissa olosuhteissa. Tämä fenotyyppi viittaa siihen, että vaikka T98G-solut ovat muuntuneet, ne säilyttävät tietyt solusyklin etenemistä säätelevät säätelymekanismit.

Sytogeneettisesti T98G-solut ovat erittäin aneuploidisia, ja niiden modaalin kromosomiluku on 124-126, mikä viittaa huomattavaan kromosomien epävakauteen. Merkkikromosomien ja minuuttikromosomien esiintyminen niiden karyotyypissä kuvastaa lisäksi geneettisiä muutoksia, jotka liittyvät yleisesti glioblastoma multiformeen. Muuntuneesta ja aneuploidisesta luonteestaan huolimatta T98G-solut eivät aiheuta kasvaimia, kun ne ruiskutetaan alastomiin hiiriin, mikä osoittaa, että ankkuroitumisen riippumattomuus ei yksin riitä kasvainten muodostumiseen.

T98G-solulinja on tärkeä väline glioblastooman etenemisen, solusyklin säätelyn sekä normaalin ja transformoituneen solukäyttäytymisen välisen vuorovaikutuksen tutkimiseen. Sen kyky säilyttää normaalin G1-pysähdysten osatekijät tekee siitä erityisen hyödyllisen mallin solumuutoksen, solusyklin tarkistuspisteiden ja glioblastooman hoitotaktiikoiden taustalla olevien mekanismien tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Aivot

Disease Glioblastooma

Synonyms T 98 G, T-98G, T98 G, T98-G, T98-G

Ominaisuudet

Age 61 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Eurooppalainen

T98G-solut | 305030

Morphology Fibroblastit

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation T98G (Cytionin luettelonumero 305030)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0556

Biomolekyyli tiedot

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

Doubling time 40 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.

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

T98G-solut | 305030

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäästä 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 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 % CO_2 , 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.

T98G-solut | 305030

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.