

SK-ES-1-solut | 300435

Yleisiä tietoja

Description	Sarkooma-linjojen vasta-aineita havaittiin sarkoomapotilaiden seerumissa sen jälkeen, kun ne oli imeytetty muiden kuin sarkooma-linjojen kanssa. Myös normaalien luovuttajien seerumit olivat sytotoksisia.
Organism	Ihminen
Tissue	Luu
Disease	Ewingin sarkooma
Synonyms	Sk-Es-1, Sk-ES-1, SK ES 01, SK-ES1, SKES-1, SKES-1, SKES1, SK-ES

Ominaisuudet

Age	18 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Yksikerroksinen, tarttuva

Säätelytiedot

Citation	SK-ES-1 (Cytionin luettelonumero 300435)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0627

Biomolekyylitiedot

Antigen expression	Veriryhmä A, Rh+
---------------------------	------------------

SK-ES-1-solut | 300435**Isoenzymes** PGM3, 1-2, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, Fenotyypin frekvenssituote: 0.0548**Tumorigenic** Kyllä, alastomilla hiirillä muodostaa pienisoluisen pahanlaatuisen kasvaimen, joka vastaa Ewingin sarkoomaa**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 %: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 tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Split ratio** Suositeltava suhde on 1:2-1:5**Seeding density** 1×10^4 solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

SK-ES-1-solut | 300435

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 jäädästä 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 % 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.

SK-ES-1-solut | 300435

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 ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

STR-profiili

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 11

D13S317: 8,9

D16S539: 11

D5S818: 12

D7S820: 10,11

TH01: 6.9.3

TPOX: 8

vWA: 14,17

D3S1358: 16,18

D21S11: 30

D18S51: 13,15

Penta E: 11

Penta D: 11,13

D8S1179: 11,13

FGA: 20,21