

C6-solut | 500142

Yleisiä tietoja

Description

C6-solulinja ylläpitää gliasolutyyppiä, jolla on fibroblastimorfologia, ja se on peräisin Wisthar-Furthin rotan glioomasta. Gliooma indusoiitiin altistamalla N-nitrosometyyliurealle useiden vuorottelevien viljely- ja eläinkierrosjaksojen jälkeen.

C6-gliooma-solulinjaa käytetään usein neuro-onkologisessa tutkimuksessa sellaisten eläinmallien luomiseksi, jotka jäljittelevät läheisesti ihmisen gliooman ominaisuuksia, mikä auttaa uusien terapeuttisten aineiden ja strategioiden kehittämisessä. Se on erityisen tehokas 3D-soluviljelyssä ja korkean läpimenon seulonnassa.

C6-solut ovat geneettisesti monimuotoisia, sillä niillä on villityyppinen p53-geeni, lisääntynyt Rb-geenin ilmentyminen ja mutantti p16/Cdkn2a/lnk4a-lokus, mutta niiltä puuttuu p16- ja p19ARF-mRNA-ilmentyminen. Ne myös yliekspressoivat useita ihmisen glioomissa esiintyviä genejä, kuten PDGFβ:tä, IGF-1:tä, EGFR:ää ja Erb3/Her3-prekursori-proteiineja.

IGF-2:n, FGF-9:n ja FGF-10:n ilmentyminen kuitenkin vähenee, kun taas MMP-7-geenin ilmentyminen pysyy ennallaan. Ihmisen gliomien tapaan C6-soluissa Ras-reitin geenien aktiivisuus on lisääntynyt, ja sitä säätelee Ras-guaaniinirifosfaattiaktivaattoriproteiinin lisääntyminen.

C6-solulinjaa on hyödynnetty useissa tutkimuksissa. Sitä käytettiin esimerkiksi tutkimaan 2-(2,4-dihydroksifenyyli)tieno-1,3-tiatsin-4-onin (BChTT) kykyä pysäyttää syöpäsolujen lisääntyminen ja tutkimaan tähän prosessiin liittyviä mekanismeja.

Toisessa tutkimuksessa tutkittiin vanhan miehenparran (Usnea barbata) ylikriittisen CO₂-uutteen (SCE) sytotoksista ja antioksidanttisia ominaisuuksia C6-soluja käyttäen. Mielenkiintoista on, että näiden solujen on raportoitu osoittavan lisääntynyttä glyseryylifosfaattidehydrogenaasiaktiivisuutta vastauksena glukokortikoidien vaikutukseen.

Organism Rotta

Tissue Aivot

Disease Gliooma

Synonyms C-6, C 6, RGC-6, RGC6, RGc6, RGc6

Ominaisuudet

Age Määrittelemätön

Gender Mies

Morphology Fibroblastien kaltaiset

Cell type Gliasolut

C6-solut | 500142

Growth properties	Tarttuva
--------------------------	----------

Säätelytiedot

Citation	C6 (Cytionin luettelonumero 500142)
-----------------	-------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	10116
-------------------	-------

CellosaurusAccession	CVCL_0194
-----------------------------	-----------

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Glukokortikoidi
----------------------------	-----------------

Viruses	Positiivinen LCMV:lle
----------------	-----------------------

Virus susceptibility	Vesicular stomatitis (Indiana), rokotus, herpes simplex
-----------------------------	---------------------------------------------------------

Virus resistance	Poliovirus 3
-------------------------	--------------

Reverse transcriptase	Negatiivinen
------------------------------	--------------

Products	S-100-proteiini, glyseryylifosfaattidehydrogenaasin tuotanto vasteena glukokortikoidille, somatotropiinille.
-----------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
-----------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
--------------------	---------------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

C6-solut | 500142

Doubling time 24 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 1×10^4 solua/cm² tuottaa konfluenttisen kerroksen noin 4 päivässä.

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 osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

C6-solut | 500142

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.

C6-solut | 500142

**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.