

EBC-1 sejtek | 305539

Általános információk

Description

Az EBC-1 egy humán tüdő laphámsejtes karcinóma sejtvonal, amelyet elsősorban a tüdőrákkal, különösen a nem kissejtes tüdőrákkal (NSCLC) kapcsolatos mechanizmusok tanulmányozásában betöltött szerepe miatt tartanak számon. Ezt a sejtvonalat a MET gén amplifikációja jellemzi, amely szerepet játszik a tumor növekedését és a terápiával szembeni rezisztenciát kiváltó onkogén jelátviteli útvonalakban. A MET receptor tirozinkináz aktivációja, amelyet jellemzően a hepatocita növekedési faktor (HGF) indukál, jelentős szerepet játszik e sejtek proliferációjában, túlélésében és áttétképzésében. A MET jelátvitelben mutatkozó eltérések kulcsfontosságúak az EBC-1 agresszív tumorprofiljában, így a MET gátlását célzó célzott terápiák tanulmányozásának alapvető modelljévé válik.

Az EBC-1 sejtek felhasználásával végzett kutatások a MET-gátlókkal, például a krizotinibbal szembeni különböző rezisztencia-mechanizmusokat vizsgálták. A sejtvonal a PAI-1 felszabályozását és az epiteliális-mesenchimális átmenetet (EMT) magában foglaló útvonalakon keresztül szerzett rezisztenciát mutatott, ami hozzájárul a terápiás kihívásokhoz. Emellett kimutatták, hogy a nátrium-butirát módosítja a génexpressziót az EBC-1 sejtekben, ami a hiszton-deacetiláz-gátlók potenciális hasznosságát jelzi a génátírás befolyásolásában. Ezek az eredmények aláhúzzák az EBC-1 jelentőségét mind a terápiás rezisztencia kutatásában, mind a MET-amplifikált tüdőrák új kezelési stratégiáinak kifejlesztésében.

Organism

Emberi

Tissue

Tüdő

Disease

Laphámsejtes karcinóma

Metastatic site

Bőr

Synonyms

EBC-1/original, EBC1

Jellemzők

Age

69 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Tajvani

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

EBC-1 sejtek | 305539

Citation EBC-1 (Cytion katalógusszám: 305539)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_2891

Biomolekuláris adatok

Mutational profile Mutáció: DDR2, p.Thr681Ile (c.2042C>T), heterozigóta; Mutáció: DDR2, p.Thr681Ile (c.2042C>T), heterozigóta; EGFR, p.Leu858Arg (c.2573T>G), heterozigóta; Mutáció: TP53, p.Glu171Ter (c.511G>T), homozigóta

A kezelése

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)

Supplements A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

EBC-1 sejtek | 305539

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejttabletát 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonali folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

EBC-1 sejtek | 305539

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.