Product sheet

EFM-19 sejtek | 305540

Általános információk

Description	Az EFM-19 egy ösztrogénreceptor-pozitív (ER+) emberi emlőrák-sejtvonal, amelyet az ösztrogén és az antiösztrogének – például a tamoxifen – génkifejeződésre gyakorolt hatásainak vizsgálatára használnak. Ez a sejtvonal erőteljes reakciót mutat az ösztrogén-stimulációra, amely szabályozza a különböző ösztrogén által szabályozott RNS-ek kifejeződését. Érdemes megjegyezni, hogy az EFM-19 sejtek az ösztrogénreceptor mRNS-ét magasabb szinten fejezik ki, mint más emlőrák-sejtvonalak, például az MCF-7. Az EFM-19-re irányuló kutatások rávilágítottak az ösztrogén által szabályozott RNS-expresszió egyedülálló profiljára. Például kimutatták, hogy az ösztradiol indukálja az olyan RNS-eket, mint a pNR-1, pNR-2, pNR-25 és pNR-100. Ez az indukció a mérsékelt (a pNR-100 esetében háromszoros) és a jelentős (a pNR-2 esetében több mint százszoros) mérték között mozog. Érdekes módon ezeknek az RNS-eknek a tamoxifenre adott válasza eltérő: míg a tamoxifen egyes RNS-ek (pl. a pNR-1) esetében részleges ösztrogén-agonistaként hat, másoknál (pl. a pNR-2) hatékonysága alacsonyabb. Ez a sejtvonal ezért értékes az ösztrogén és az antiösztrogének génszabályozásra gyakorolt eltérő hatásainak tanulmányozásához. Az EFM-19 sejtek emellett az ösztrogén emlőrák-biológiában betöltött tágabb szerepét feltáró kutatásokban való alkalmazásuk miatt is figyelemre méltóak. Expressziós profiljuk hozzájárul annak megértéséhez, hogy az ösztrogén és az ösztrogénreceptor-jelátvitel hogyan befolyásolja a tumorogenezist és a kezelésre adott válaszokat. Ez a sejtvonal – más, például az MCF-7-hez hasonló sejtvonalak mellett – segít az ösztrogén által vezérelt mechanizmusok feltárásában, ami potenciálisan alapul szolgálhat a hormonalapú beavatkozásokat magukban foglaló terápiás stratégiák kidolgozásához.
Organism	Emberi
Tissue	Mell
Disease	Emlőduktális karcinóma
Metastatic site	Mellhártya folyadékgyülem
Synonyms	EFM19

Jellemzők

Age	50 év
Gender	Női
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Adherent

EFM-19 sejtek | 305540

Szabályozási adatok

Citation	EFM-19 (Cytion katalógusszám: 305540)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0253

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	HER2-pozitív, ER-++, AR-++, PR-++
Mutational profile	Mutáció: PIK3CA, p.His1047Leu (c.3140A>T), homozigóta; Mutáció: TP53, p.His193Arg (c.578A>G), homozigóta

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 20% FBS-szel egészítsük ki
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.
Seeding density	4–6*10^4/cm^2
Fluid renewal	A konfluens tenyészetet hetente kétszer osszuk szét.

EFM-19 sejtek | 305540

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.

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 kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 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 sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat 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 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.