

T98G sejtek | 305030

Általános információk

Description

A T98G sejtvonal egy 61 éves férfi betegből származó humán glioblastoma multiforme modell. A tumorigenezis, a sejtproliferáció és az átalakulás molekuláris mechanizmusainak tanulmányozására hozták létre. A T98G sejtek a normális és a transzformált sejtjellemzők egyedülálló kombinációját mutatják, ami értékes modellté teszi őket a rákbiológia vizsgálatára. Konkrétan, miközben a T98G sejtek halhatatlanok és képesek a lehorgonyzás-független növekedésre, megtartják azt a képességüket, hogy állófázisú körülmények között G1 fázisban leálljanak, ami jellemzően a normál sejtekhez társított tulajdonság.

Ami a növekedési jellemzőket illeti, a T98G sejtek horgonyzásfüggetlenséget mutatnak, amint azt a metilcellulózban, egy félig szilárd közegben való kolóniaképzésre való képességük mutatja. Sok transzformált sejtvonallal ellentétben azonban a sejtciklus G1 fázisában megállnak, amikor nagy sejtsűrűségű vagy alacsony szérumkoncentrációjú körülményeknek vannak kitéve. Ez az egyedülálló képesség, hogy ilyen körülmények között G1 leálláson megy keresztül, megkülönbözteti a T98G-t más rákos sejtvonalaktól, mint például a HeLa vagy a T98 szülői sejtek, amelyek hasonló körülmények között továbbra is szaporodnak. Ez a fenotípus arra utal, hogy bár a T98G sejtek átalakultak, megtartanak bizonyos szabályozó mechanizmusokat, amelyek a sejtciklus progresszióját szabályozzák.

Citogenetikai szempontból a T98G sejtek erősen aneuploidok, 124-126-os kromoszómaszámmal, ami jelentős kromoszóma-instabilitásra utal. A kariotípusukban a marker kromoszómák és a perckromoszómák jelenléte tovább tükrözi a glioblastoma multiforme-hoz általában társuló genetikai elváltozásokat. Transzformált és aneuploid jellegük ellenére a T98G sejtek nem tumorigénak bizonyulnak, amikor meztelen egerekbe injektálják őket, ami azt bizonyítja, hogy a tumorigénitáshoz önmagában a lehorgonyzás függetlensége nem elegendő.

A T98G sejtvonal fontos eszközként szolgál a glioblastoma progressziójának, a sejtciklus szabályozásának, valamint a normális és a transzformált sejtek viselkedése közötti kölcsönhatás tanulmányozására. Az a képessége, hogy képes megtartani a normális G1 leállás aspektusait, különösen hasznos modellté teszi a sejtek átalakulásának, a sejtciklus ellenőrzőpontjainak és a glioblastoma terápiás célpontjainak háttérben álló mechanizmusok feltárására.

Organism Emberi

Tissue Agy

Disease Glioblastoma

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

Jellemzők

Age 61 év

Gender Férfi

Ethnicity Európai

T98G sejtek | 305030

Morphology Fibroblasztok

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation T98G (Cytion katalógusszám: 305030)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0556

Biomolekuláris adatok

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

Doubling time 40 óra

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 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium A kriokonzerváláshoz 50%-os alapközeget + 40% FBS + 10% DMSO-t vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) használunk, amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regeneráció fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

T98G sejtek | 305030

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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 sejt pelletet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

T98G sejtek | 305030

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.