

SF188 ląstelės | 305870

Bendra informacija

Description

SF188 ląstelių linija yra žmogaus daugiaformės glioblastomos (GBM) modelis, sukurtas remiantis vaikų ligozės mėginiais. Ji plačiai naudojama chemoterapinio atsparumo mechanizmams tirti, ypač alkilinančių medžiagų, pvz., 1,3-bis(2-chloretil)-1-nitrozourea (BCNU), atžvilgiu. Palyginti su kitomis iš gliomos gautomis ląstelių linijomis, pvz., SF126, SF188 pasižymi žymiai didesniu atsparumu BCNU sukeltam citotoksiškumui ir genotoksiškumui. Konkrečiai, SF188 rodo maždaug tris kartus didesnę atsparumą išgyvenamumo tyrimuose ir 14 kartų mažesnę jautrumą BCNU sukeltam seserinių chromatidų mainui (SCE), o tai rodo stiprų DNR pažeidimų tolerancijos fenotipą.

SF188 atsparumas siejamas su sustiprintu DNR remonto pajėgumu, ypač su greitu ir veiksmingu O⁶-alkilguanino aduktų pašalinimu. Veikiant metilantiems agentams, pavyzdžiui, N-metil-N-nitrozourea, SF188 ląstelės rodo ryškų O⁶-metilguanino pažeidimų pašalinimą, tuo tarpu jautresnės ląstelių linijos rodo minimalų remonto aktyvumą. Šis veiksmingas pažeidimų remontas tikriausiai užkerta kelią tarpgrandinių kryžminių ryšių susidarymui, taip išlaikydamas genomo vientisumą ir padidindamas ląstelių išgyvenimą. Svarbu paminėti, kad SF188 taip pat pasižymi dideliu chromosomų skaičiumi (modalinis skaičius – 91) ir jose neekspresuojamas glialinis fibriliarinis rūgštis baltymas (GFAP), o tai patvirtina jos menkai diferencijuotą gliomos kilmę ir daro ją puikiu modeliu, skirtu tirti DNR remonto ir chemoresistentiškumo sąveiką aukšto laipsnio gliomose.

Organism Žmogus

Tissue Smegenys, dešinysis priekinis skilvelis

Disease Glioblastoma

Synonyms SF-188, SF 188

Charakteristikos

Age 8 metai

Gender Vyras

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation SF188 (Cytion katalogo numeris 305870)

Biosafety level 1

SF188 ląstelės | 305870

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6948

Biomolekuliniai duomenys

Mutational profile Mutacija: TP53, paprasta, p.Gly266Glu (c.797G>A), homozigotinė (PubMed=9614553, PubMed=10416987).

Tvarkymas

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 26 valandos**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Seeding density** $2-4 \times 10^4$ ląstelių/cm²**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

SF188 ląstelės | 305870

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

SF188 ląstelės | 305870

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.