

T98G ląstelės | 305030

Bendra informacija

Description

T98G ląstelių linija yra žmogaus daugiaformės glioblastomos modelis, gautas iš 61 metų vyro. Ji buvo sukurta siekiant ištirti molekulinį naviko genėzės, ląstelių proliferacijos ir transformacijos mechanizmus. T98G ląstelės pasižymi unikaliu normalių ir transformuotų ląstelių savybių deriniu, todėl yra vertingas vėžio biologijos tyrimų modelis. Tiksliau, nors T98G ląstelės yra nemirtingos ir gali augti nepriklausomai nuo inkaravimo, jos išlaiko gebėjimą sustoti G1 fazėje stacionariomis sąlygomis, o tai paprastai būdinga normalioms ląstelėms.

T98G ląstelės pasižymi nepriklausomumu nuo inkaravimo, kaip rodo jų gebėjimas formuoti kolonijas pusiau kietoje terpėje - metilceliuliozėje. Tačiau, skirtingai nei daugelis transformuotų ląstelių linijų, jos sustoja ląstelių ciklo G1 fazėje, kai yra didelis ląstelių tankis arba maža serumo koncentracija. Šis unikalus gebėjimas tokiomis sąlygomis sustabdyti G1 ciklą išskiria T98G iš kitų vėžio ląstelių linijų, tokių kaip HeLa ar tėvinės T98 ląstelės, kurios panašiomis sąlygomis toliau dauginasi. Šis fenotipas rodo, kad nors T98G ląstelės yra transformuotos, jos išlaiko tam tikrus reguliacinius mechanizmus, kontroliuojančius ląstelių ciklo progresavimą.

Citogenetiniu požiūriu T98G ląstelės yra labai aneuploidinės, jų chromosomų skaičius yra 124-126, o tai rodo didelį chromosomų nestabilumą. Jų kariotipe esančios žymėtosios chromosomos ir mažosios chromosomos dar labiau atspindi genetinius pakitimus, kurie paprastai būdingi daugiaformei glioblastomai. Nepaisant to, kad T98G ląstelės yra transformuotos ir aneuploidinės, įšvirkštos į nuogas peles jos nėra navikinės, o tai rodo, kad vien tik nepriklausomybės nuo įtvirtinimo nepakanka navikiškumui.

T98G ląstelių linija yra svarbi priemonė tiriant glioblastomos progresavimą, ląstelių ciklo reguliavimą ir normalios bei transformuotos ląstelių elgsenos sąveiką. Dėl gebėjimo išlaikyti normalaus G1 sulaikymo aspektus ši ląstelė yra ypač naudingas modelis tiriant ląstelių transformacijos mechanizmus, ląstelių ciklo kontrolės taškus ir glioblastomos terapinius taikinius.

Organism Žmogus

Tissue Smegenys

Disease Glioblastoma

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

Charakteristikos

Age 61 metai

Gender Vyras

Ethnicity Europos

Morphology Fibroblastai

T98G ląstelės | 305030

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation T98G (Cytion katalogo numeris 305030)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0556

Biomolekuliniai duomenys

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 40 valandų

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 perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

T98G ląstelės | 305030**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°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°C temperatūros vandens vonelę su švariu 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°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

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

**Shipping
Conditions**

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

T98G ląstelės | 305030

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

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.