

EBC-1 šūnas | 305539

Vispārīga informācija

Description

EBC-1 ir cilvēka plaušu plakanšūnu karcinomas šūnu līnija, kas galvenokārt ir nozīmīga, pētot ar plaušu vēzi, jo īpaši ar plaušu karcinomu, kas nav sīkšūnu plaušu karcinoma (NSCLC), saistītos mehānismus. Šai šūnu līnijai ir raksturīga MET gēna amplifikācija, kas ir saistīta ar onkogēniem signālu ceļiem, kuri veicina audzēja augšanu un rezistenci pret terapiju. Šo šūnu proliferācijā, izdzīvošanā un metastāžu veidošanā liela nozīme ir MET receptoru tirozīnkināzes aktivācijai, ko parasti inducē hepatocītu augšanas faktors (HGF). MET signalizācijas izmaiņas ir izšķirošas EBC-1 agresīvā audzēja profilā, padarot to par būtisku modeli, lai pētītu mērķterapijas, kas vērstas uz MET inhibīciju.

Pētījumos, kuros izmantotas EBC-1 šūnas, ir pētīti dažādi rezistences mehānismi pret MET inhibitoriem, piemēram, krizotinibu. Šai šūnu līnijai ir konstatēta iegūtā rezistence, izmantojot ceļus, kas ietver PAI-1 regulāciju un epitēlija-mezenhimālo pāreju (EMT), kas rada terapeitiskas problēmas. Turklāt ir pierādīts, ka nātrija butirāts modulē gēnu ekspresiju EBC-1 šūnās, norādot uz histonu deacetilāzes inhibitoru potenciālo lietderību gēnu transkripcijas ietekmēšanā. Šie atklājumi uzsvē EBC-1 nozīmi gan terapeitiskās rezistences pētījumos, gan jaunu MET amplificēta plaušu vēža ārstēšanas stratēģiju izstrādē.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Plakanšūnu karcinoma

Metastatic site

Āda

Synonyms

EBC-1/oriģinālais, EBC1

Raksturojums

Age

69 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Taivānas

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

EBC-1 (Cytion kataloga numurs 305539)

EBC-1 šūnas | 305539

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_2891**Biomolekulārie dati****Mutational profile** Mutācija: Thr681Ile (c.2042C>T), heterozigotiska; Mutācija: DDR2, p.Thr681Ile (c.2042C>T), heterozigotiska; Mutācija: EGFR, p.Leu858Arg (c.2573T>G), heterozigotiska; mutācija: TP53, p.Glu171Ter (c.511G>T), homozigotiska**Darbs ar****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

EBC-1 šūnas | 305539

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

EBC-1 šūnas | 305539

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.