Product sheet

EFM-19 šūnas | 305540

Vispārīga informācija

Description	EFM-19 ir estrogēnu receptoru pozitīva (ER+) cilvēka krūts vēža šūnu līnija, ko izmanto, lai pētītu estrogēnu un antiestrogēnu, piemēram, tamoksifēna, ietekmi uz gēnu ekspresiju. Šī šūnu līnija parāda spēcīgu reakciju uz estrogēnu stimulāciju, kas modulē dažādu estrogēnu regulētu RNS ekspresiju. Jāatzīmē, ka EFM-19 šūnas ekspresē augstākus estrogēnu receptora mRNS līmeņus salīdzinājumā ar citām krūts vēža šūnu līnijām, piemēram, MCF-7. Pētījumi par EFM-19 ir izcēluši tās unikālo estrogēnu regulētās RNS ekspresijas profilu. Piemēram, ir pierādīts, ka tādas RNS kā pNR-1, pNR-2, pNR-25 un pNR-100 inducē estradiols. Šī indukcija svārstās no mērenas (3 reizes pNR-100 gadījumā) līdz ievērojamai (vairāk nekā 100 reizes pNR-2 gadījumā). Interesanti, ka šo RNS reakcija uz tamoksifēnu ir atšķirīga; kamēr tamoksifēns dažām RNS (piem., pNR-1) darbojas kā daļējs estrogēna agonists, citām (piem., pNR-2) tā efektivitāte ir zemāka. Tādējādi šī šūnu līnija ir vērtīga, lai pētītu estrogēna un antiestrogēnu atšķirīgo ietekmi uz gēnu regulāciju. EFM-19 šūnas ir ievērojamas arī ar to pielietojumu pētījumos, kuros tiek izpētīta estrogēna plašākā loma krūts vēža bioloģijā. To ekspresijas profili palīdz izprast, kā estrogēns un estrogēna receptoru signālu pārraide ietekmē audzēju veidošanos un reakciju uz ārstēšanu. Šī šūnu līnija, līdzīgi kā citas, piemēram, MCF-7, palīdz atklāt estrogēnu vadītos mehānismus, kas potenciāli var sniegt informāciju par terapeitiskām stratēģijām, kurās ietilpst uz hormoniem balstītas ārstēšanas metodes.
Organism	Cilvēks
Tissue	Krūtis
Disease	Krūts duktālā karcinoma
Metastatic site	Pleiras izsvīdums
Synonyms	EFM19

Raksturojums

Age	50 gadi
Gender	Sievietes
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

EFM-19 šūnas | 305540

Citation	EFM-19 (Cytion kataloga numurs 305540)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0253

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 20% FBS
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.
Seeding density	4–6 × 10^4/cm^2
Fluid renewal	Sadaliet saplūstošo kultūru 2 reizes nedēļā.
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.

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% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

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.