

SF188 šūnas | 305870

Vispārīga informācija

Description

SF188 šūnu līnija ir cilvēka daudzveidīgās glioblastomas (GBM) modelis, kas izveidots, izmantojot bērna pacienta šūnas. To plaši izmanto, lai pētītu rezistences pret ķīmijterapiju mehānismus, jo īpaši pret alkilējošām vielām, piemēram, 1,3-bis(2-hloretil)-1-nitrozurīnu (BCNU). Salīdzinot ar citām no gliomām iegūtām šūnu līnijām, piemēram, SF126, SF188 izrāda ievērojami augstāku rezistenci pret BCNU izraisīto citotoksicitāti un genotoksicitāti. Konkrēti, SF188 izrāda aptuveni trīskārt lielāku rezistenci izdzīvošanas testos un 14 reizes mazāku uzņēmību pret BCNU izraisītu māsas hromatīdu apmaiņu (SCE), kas liecina par izteiktu DNS bojājumu tolerances fenotipu.

SF188 rezistenci saista ar uzlabotu DNS remonta spēju, jo īpaši ar ātru un efektīvu O⁶-alk^{yl}guan^{ina} aduktus noņemšanu. Pēc iedarbības ar metilējošiem aģentiem, piemēram, N-metil-N-nitrozourea, SF188 šūnas parāda izteiktu O⁶-metilguanīna bojājumu noņemšanu, turpretim jutīgākās šūnu līnijas parāda minimālu reparācijas aktivitāti. Šī efektīvā bojājumu reparācija, visticamāk, novērš starpšķiedru krustsaikņu veidošanos, tādējādi saglabājot genoma integritāti un palielinot šūnu izdzīvošanu. Svarīgi, ka SF188 šūnām ir arī liels hromosomu skaits (modālais skaits 91) un tajās nav gliofibrilārā skābā proteīna (GFAP) ekspresijas, kas apstiprina šīs šūnu līnijas vāji diferencēto gliomas izcelsmi un padara to par izcilu modeli, lai pētītu mijiedarbību starp DNS reparāciju un ķīmijterapijas rezistenci augstas pakāpes gliomās.

Organism Cilvēks

Tissue Smadzenes, labais priekšējais lobus

Disease Glioblastoma

Synonyms SF-188, SF 188

Raksturojums

Age 8 gadi

Gender Vīrieši

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation SF188 (Cytion kataloga numurs 305870)

Biosafety level 1

SF188 šūnas | 305870

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_6948

Biomolekulārie dati

Mutational profile Mutācija: TP53, vienkārša, p.Gly266Glu (c.797G>A), homozigota (PubMed=9614553, PubMed=10416987).

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**Doubling time** 26 stundas**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** 2 līdz 4×10^4 šūnas/cm²**Fluid renewal** 2 līdz 3 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 atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

SF188 šūnas | 305870

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.

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 starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

SF188 šūnas | 305870

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.