

9L/lacZ šūnas | 305208

Vispārīga informācija

Description

9L/lacZ šūnu līnija ir labi raksturota žurku gliosarkomu šūnu līnija, ko parasti izmanto neirobioloģiskos un onkoloģiskos pētījumos. Šī līnija, kas sākotnēji iegūta no nitrozomvielas izraisīta žurku smadzeņu audzēja, ir izstrādāta, lai ekspresētu lacZ gēnu, kas kodē fermentu β -galaktozidāzi. Šī modifikācija atvieglo audzēja šūnu izsekošanu un izpēti in vivo, kas īpaši noder eksperimentos, kas saistīti ar audzēja progresēšanu un metastāzēm. LacZ ekspresija ļauj viegli identificēt šīs šūnas, izmantojot X-gal krāsošanu, kas, ja šūnas ekspresē β -galaktozidāzi, tās iekrāso zilā krāsā.

Šīm šūnām piemīt agresīvas audzēja veidošanās spējas, ja tās implantē imūnkompromitētiem vai singēniskiem saimniekiem, padarot tās par stabilu modeli smadzeņu vēža dinamikas izpētei un terapeitisko stratēģiju izmēģināšanai pret gliomām. Turklāt 9L/lacZ šūnu līnija ir izmantota gēnu terapijas izmēģinājumos, jo īpaši novērtējot pašnāvības gēnu un citu ģenētisku iejaukšanās pasākumu efektivitāti, lai kontrolētu audzēja augšanu. Šai līnijai ir arī izšķiroša nozīme audzēja šūnu un saimnieka imūnsistēmas mijiedarbības izpratnē, tādējādi veicinot izpratni par audzēju imunoloģijas sarežģītību.

Organism

Žurkas

Tissue

Smadzenes

Disease

Žurku ļaundabīgā glioma

Synonyms

9L/LacZ

Raksturojums

Breed/Subspecies

Fischer 344

Gender

Vīrieši

Morphology

Fibroblasti

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

9L/lacZ (Cytion kataloga numurs 305208)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10116

9L/lacZ šūnas | 305208

CellosaurusAccession CVCL_5656**GMO Status** GMO-S1: Šī žurku gliomas šūnu līnija (9L/lacZ) satur lacZ un Tn5-neo gēnus, kas piegādāti ar replikācijas deficīta BAG retrovīrusu vektoru, nodrošinot β-galaktozidāzes ekspresiju un rezistenci pret neomicīnu. Šī modifikācija ir stabila 9L gliomas šūnās. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% 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.**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 atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

9L/lacZ šūnas | 305208

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.

9L/lacZ šūnas | 305208

**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 pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.