

## Kera-308 šūnas | 400429

## Vispārīga informācija

## Description

Kera-308 šūnu līnija, kas izveidota no pieaugušu peļu ādas keratinocītiem, ir daudzpusīgs modelis sarežģītu ādas fizioloģijas procesus, jo īpaši brūču dzīšanas un keratinocītu funkciju, izpētei. Šai šūnu līnijai piemīt ievērojama spēja paaugstināt keratīna ekspresiju, tostarp brūču izraisītu keratīna tipu, piemēram, Krt6a, īpašos apstākļos, piemēram, apstrādājot ar Morus alba saknes ekstraktu. Kera-308 šūnu spēja reaģēt uz phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) izceļ to lietderību, pētīt šūnu mehānismus, kas ir ādas atjaunošanās un reģenerācijas pamatā.

Kera-308 šūnu izcilā īpašība ir no devas atkarīgā proliferācijas reakcija, ko var ievērojami pastiprināt ar ārējiem stimuliem, piemēram, Morus alba saknes ekstraktu. Šī īpašība padara Kera-308 par lielisku līdzekli keratinocītu proliferācijas un diferenciācijas molekulāro pamatu izpētei, reaģējot uz terapeitiskiem līdzekļiem.

Turklāt Kera-308 šūnu transkripcijas profils brūču dzīšanas scenārijos, jo īpaši to keratīna pavedienu un CXCL12/CXCR4 signalizācijas pastiprināšanās, sniedz nenovērtējamu ieskatu šūnu un molekulārajā dinamikā ādas atjaunošanās laikā. Šo signalizācijas ceļu iesaistīšanās uzsvē Kera-308 šūnu nozīmi jaunu terapeitisko stratēģiju izpētē, lai uzlabotu brūču dzīšanu un ādas slimību ārstēšanu.

**Organism** Pele

**Tissue** Āda

**Disease** Peles ādas papiloma

**Synonyms** KERA-308, 308, 308. līnija

## Raksturojums

**Breed/Subspecies** BALB/c

**Cell type** Keratinocīti

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** Kera-308 (Cytion kataloga numurs 400429)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 10090

**Kera-308 šūnas | 400429**

CellosaurusAccession CVCL\_5782

**Biomolekulārie dati****Darbs ar**

**Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS

**Dissociation Reagent** TrypLE Express (Life Technologies)

**Subculturing** Noņemiet barotni un izskalojiet pielipušās šūnas, izmantojot PBS bez kalcija un magnija (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 šūnu kultūru kolbām). Pievienojiet TrypLE Express (1-2 ml uz T25, 2,5 ml uz T75 šūnu kultūru kolbu), šūnu sloksnei jābūt pilnībā pārklātai. 15 minūtes inkubēt 37 grādu temperatūrā. Uzmanīgi resuspendēt šūnas ar 10 ml barotnes (vajadzības gadījumā izmantot šūnu skrāpi), centrifugēt 5 minūtes ar 300xg, resuspendēt šūnas svaigā barotnē un izlietot jaunās kolbās, kurās ir svaiga barotne.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu  $5 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup> un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

**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.

## Kera-308 šūnas | 400429

### 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%  $\text{CO}_2$ , 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.

## Kera-308 šūnas | 400429

### 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.