

T98G šūnas | 305030

Vispārīga informācija

Description

T98G šūnu līnija ir cilvēka multiformas glioblastomas modelis, kas iegūts no 61 gadu veca vīrieša. Tā tika izveidota, lai pētītu audzēja rašanās, šūnu proliferācijas un transformācijas molekulāros mehānismus. T98G šūnām piemīt unikāla gan normālu, gan transformētu šūnu īpašību kombinācija, kas padara tās par vērtīgu vēža bioloģijas izpētes modeli. Konkrēti, lai gan T98G šūnas ir nemirstīgas un spēj augt neatkarīgi no enkura, tās saglabā spēju apstāties G1 fāzē stacionāras fāzes apstākļos, kas parasti ir raksturīga normālām šūnām.

Attiecībā uz augšanas īpašībām T98G šūnām piemīt neatkarība no enkura, ko pierāda to spēja veidot kolonijas metilcelulozē, puscieta vidē. Tomēr atšķirībā no daudzām transformētām šūnu līnijām tās apstājas šūnu cikla G1 fāzē, ja tās tiek pakļautas augsta šūnu blīvuma vai zemas seruma koncentrācijas apstākļiem. Šī unikālā spēja šajos apstākļos apstādināt G1 šūnu ciklu atšķir T98G no citām vēža šūnu līnijām, piemēram, HeLa vai vecāku T98 šūnām, kas turpina vairoties līdzīgos apstākļos. Šis fenotips liecina, ka, lai gan T98G šūnas ir pārveidotas, tās saglabā noteiktus regulējošos mehānismus, kas kontrolē šūnu cikla progresēšanu.

Citoģenētiski T98G šūnas ir ļoti aneuploīdas, ar modālo hromosomu skaitu 124-126, kas norāda uz ievērojamu hromosomu nestabilitāti. To kariotipā esošās marķieru hromosomas un mazās hromosomas vēl vairāk atspoguļo ģenētiskās izmaiņas, kas parasti saistītas ar multiformu glioblastomu. Neraugoties uz T98G šūnu transformēto un aneuploīdu raksturu, tās, injicējot kailām pelēm, nav tumorogēnas, kas pierāda, ka tikai neatkarība no enkurošanās nav pietiekama, lai nodrošinātu tumorogēniskumu.

T98G šūnu līnija kalpo kā svarīgs instruments glioblastomas progresēšanas, šūnu cikla regulācijas un mijiedarbības starp normālu un transformētu šūnu uzvedību izpētei. Tās spēja saglabāt normālas G1 apstāšanās aspektus padara to par īpaši noderīgu modeli šūnu transformācijas, šūnu cikla kontrolpunktu un glioblastomas terapeitisko mērķu izpētei.

Organism Cilvēks

Tissue Smadzenes

Disease Glioblastoma

Synonyms T 98 G, T-98G, T-98G, T98 G, T98-G

Raksturojums

Age 61 gads

Gender Vīrieši

Ethnicity Eiropas

Morphology Fibroblasti

T98G šūnas | 305030

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Normatīvie dati

Citation	T98G (Cytion kataloga numurs 305030)
-----------------	--------------------------------------

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_0556
-----------------------------	-----------

Biomolekulārie dati**Darbs ar**

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamīns, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (Cytion izstrādājuma numurs 820100a)
-----------------------	---

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	40 stundas
----------------------	------------

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielīpušajām 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 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	---

T98G šūnas | 305030

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.

T98G šūnas | 305030

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.