

15P-1 šūnas | 305191**Vispārīga informācija****Description**

15p-1 šūnas ir zīdītāju šūnu līnija, kas iegūta no *Mus musculus*, ko īpaši izmanto, lai pētītu šūnu reakciju uz steroīdu hormoniem. Šīm šūnām, kas iegūtas no peļu sēklinieku audiem, piemīt unikāla jutība pret androgēniem, tāpēc tās ir īpaši vērtīgas endokrinoloģijā un vēža pētījumos. 15p-1 šūnu līnija ekspresē androgēnu receptoru (AR), kas ļauj pētīt androgēnu ietekmi uz gēnu ekspresiju, šūnu augšanu un diferenciacijas procesiem.

Raksturīgi, ka 15p-1 šūnas tiek izmantotas, lai pētītu molekulāros ceļus, ko ietekmē androgēni, un to lomu tādās slimībās kā prostatas vēzis. Tās nodrošina kontrolētu in vitro vidi, kurā var analizēt mijiedarbību starp androgēniem un to šūnu receptoriem, veicinot ieskatu gan normālos fizioloģiskos, gan patoloģiskos stāvokļos. Šī šūnu līnija ir arī noderīga, lai pārbaudītu potenciālos farmaceutiskos līdzekļus, kas vērsti uz ar androgēniem saistītiem ceļiem, veicinot terapeitisko stratēģiju izstrādi.

15p-1 šūnām, kas tiek uzturētas standarta šūnu kultūras apstākļos, nepieciešama barotne, kas bagātināta ar fetālo liellopu serumu (FBS), un optimāla temperatūra 37 °C, kā arī 5 % CO₂ koncentrācija, lai imitētu fizioloģiskos apstākļus. Stingra kvalitātes kontrole ir būtiska, lai saglabātu to ģenētiskās un fenotipiskās īpašības, nodrošinot uzticamus un reproducējamus rezultātus pētniecībā.

Organism Transgēnā pele**Tissue** Testis**Raksturojums****Breed/Subspecies** C57BL/6 x DBA/2**Age** 6 mēneši**Gender** Vīrieši**Morphology** Epitēlija**Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** 15P-1 (Cytion kataloga numurs 305191)**Biosafety level** 1

15P-1 šūnas | 305191**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_6552**GMO Status** GMO-S1: Šī peļu sēklinieku šūnu līnija (15P-1) satur MPyV lielo T antigēnu, kas ieviests ar MPyV vektoru, kas veicina transformāciju un ilgstošu proliferāciju. Šī modifikācija ir integrēta peļu sēklinieku 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** Vispirms noņemiet veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgājiet 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 samaisa šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugē 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 atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

15P-1 šūnas | 305191

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

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

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.

15P-1 šūnas | 305191

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.