

ACHN šūnas | 300117

Vispārīga informācija

Description

ACHN šūnu līnija ir iegūta no 22 gadus veca kaukāzieša ar plaši metastātisku nieru adenokarcinomu ļaundabīgā pleiras izvīduma. Šūnu līnija tika izveidota 1979. gada novembrī, pēc vēža šūnu tiešas iesēšanas kultūras kolbās, kas saturēja Eagle's MEM ar 10 % FBS. 150 dienu laikā šūnas tika uzturētas un pārnestas in vitro. Pēc tam šūnas tika subkutāni inokulētas kailām pelēm, kur tās četru nedēļu laikā veidoja taustāmus, lokāli invazīvus audzējus. Šī šūnu līnija ir tumorigēna, ko pierāda tās spēja izraisīt audzējus 100 % kailām pelēm (5/5), kurām tika inokulētas 10^7 šūnas, un audzēji attīstījās 21 dienu laikā.

ACHN šūnas raksturo adhezīvs augšanas modelis un tās ekspresē specifiskus izoenzīmus, tostarp G6PD (B tips). Šī šūnu līnija ir pazīstama arī ar savu reakciju uz cilvēka interferoniem un interferonu induktoriem, kas to padara īpaši noderīgu antiproliferatīvos pētījumos. Gan sākotnējās ACHN šūnas, gan tās, kas atgūtas no audzējiem kailām pelēm, demonstrē augšanas inhibīciju cilvēka interferonu klātbūtnē, uzsverot to potenciālo pielietojumu pētījumos, kuros izpēta interferonu terapijas efektivitāti nieru vēža ārstēšanā.

ACHN šūnu līnija ir vērtīgs instruments vēža pētījumos, īpaši saistībā ar nieru adenokarcinomu. Tā kalpo kā svarīgs modelis, lai pētītu tumorigenitāti, metastāzes un interferonu ietekmi uz vēža šūnu proliferāciju. Tās spēja veidot audzējus in vivo un reaģēt uz interferonu terapiju nodrošina stabilu platformu jaunu terapeitisko pieeju izstrādei un testēšanai, kas vērstas uz nieru šūnu karcinomu.

Organism Cilvēks

Tissue Nieres

Disease Adenokarcinoma

Raksturojums

Age 22 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Vienslāņa, adhēzija

Normatīvie dati

Citation ACHN (Cytion kataloga numurs 300117)

ACHN šūnas | 300117

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1067**Biomolekulārie dati****Receptors expressed** CAI_x- (karbonanhidrāze I_x)**Protein expression** P53 pozitīvs**Isoenzymes** CAI_x-**Tumorigenic** Jā, kailām pelēm**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** 30 stundas**Subculturing** Noņem 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** 1×10^4 šūnas/cm² 4 dienu laikā izveidosies konfluents monoslānis.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā

ACHN šūnas | 300117

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² 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.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārlicinieties, 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% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

ACHN šūnas | 300117

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.

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

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.

HLA alēles

A*: '26:01:01
B*: '49:01:01
C*: '07:01:01
DRB1*: '16:01:01
DQA1*: '01:02:02
DQB1*: '05:002:01
DPB1*: '02:01:02
E: '01:03:05