

C6 šūnas | 500142

Vispārīga informācija

Description

C6 šūnu līnija saglabā glijas šūnu tipu ar fibroblastu morfoloģiju un ir iegūta no Wistar-Furth žurkas gliomas. Gliomu izraisīja N-nitrozometilurīnvielas iedarbība pēc daudziem cikliem, kad pārmaiņus tika veikta kultivēšana un dzīvnieku pārvietošana.

C6 gliomas šūnu līniju bieži izmanto neiroonkoloģiskajos pētījumos, lai izveidotu dzīvnieku modeļus, kas precīzi atdarina cilvēka gliomas īpašības, palīdzot izstrādāt jaunus terapeitiskos līdzekļus un stratēģijas. Tā ir īpaši efektīva 3D šūnu kultūrā un augstas veiktspējas skrīningā.

C6 šūnas ir ģenētiski daudzveidīgas, tām piemīt savvaļas tipa p53 gēns, paaugstināta Rb gēna ekspresija un mutants p16/Cdkn2a/Ink4a lokuss, bet trūkst p16 un p19ARF mRNA ekspresijas. Tie arī pārmērīgi ekspresē vairākus cilvēka gliomām raksturīgus gēnus, piemēram, PDGFβ, IGF-1, EGFR un Erb3/Her3 prekursoru proteīnus.

Tomēr IGF-2, FGF-9 un FGF-10 ekspresija ir samazināta, bet MMP-7 gēnu ekspresija paliek nemainīga. Tāpat kā cilvēka gliomām, arī C6 šūnām ir paaugstināta Ras ceļa gēnu aktivitāte, ko regulē paaugstināta Ras gvanīna trifosfāta aktivatora proteīna ekspresija.

C6 šūnu līnija ir izmantota dažādos pētījumos. Piemēram, to izmantoja, lai pārbaudītu 2-(2,4-dihidroksi fenil)tiēno-1,3-tiazīn-4-ona (BChTT) spēju apturēt vēža šūnu proliferāciju un izpētītu šajā procesā iesaistītos mehānismus.

Citā pētījumā, izmantojot C6 šūnas, tika pētītas vecā vīra bārdas (Usnea barbata) superkritiskā CO2 ekstrakta (SCE) citotoksiskās un antioksidatīvās īpašības. Interesanti, ka šīm šūnām, reaģējot uz glikokortikoidiem, tika konstatēts paaugstināts glicerilfosfātdehidrogenāzes aktivitātes līmenis.

Organism Žurkas

Tissue Smadzenes

Disease Glioma

Synonyms C-6, C 6, RGC-6, RGC6, RGc6, RGc6

Raksturojums

Age Nav norādīts

Gender Vīrieši

Morphology Fibroblastiem līdzīgs

Cell type Gliālās šūnas

C6 šūnas | 500142

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation C6 (Cytion kataloga numurs 500142)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 10116

CellosaurusAccession CVCL_0194

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Glikokortikoīdi

Viruses Pozitīvs uz LCMV

Virus susceptibility Vezikulārais stomatīts (Indiana), vakcīnija, herpes simplex

Virus resistance Poliovīruss 3

Reverse transcriptase Negatīvs

Products S-100 proteīns, glicerilfosfāta dehidrogenāzes ražošana, reaģējot uz glikokortikoīdiem, somatotrofīns.

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

C6 šūnas | 500142

Doubling time 24 stundas**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.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm² veidos konfluentu slāni apmēram 4 dienu laikā.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkliešiet 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 atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

C6 šūnas | 500142

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.

C6 šūnas | 500142

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.