

SF188 Celler | 305870

Generell informasjon

Description

SF188-cellelinjen er en modell for humant glioblastoma multiforme (GBM) som er etablert fra en barnepasient. Den brukes mye til å studere mekanismene bak resistens mot kjemoterapi, særlig mot alkylerende midler som 1,3-bis(2-kloroetyl)-1-nitrosourea (BCNU). Sammenlignet med andre gliom-avledede cellelinjer som SF126, viser SF188 betydelig høyere resistens mot BCNU-indusert cytotoxicitet og genotoxicitet. Spesielt viser SF188 omtrent tre ganger større resistens i overlevelsesanalyser og 14 ganger lavere følsomhet for BCNU-indusert søsterkromatidutveksling (SCE), noe som indikerer en robust fenotype for DNA-skadetoleranse.

Resistensen i SF188 tilskrives forbedret DNA-reparasjonsevne, spesielt den raske og effektive fjerningen av O⁶-alkylguanⁱⁿ-addukter. Ved eksponering for metyleringsmidler som N-metyl-N-nitrosourea viser SF188-celler markert fjerning av O⁶-metylguaninlesjoner, mens mer følsomme cellelinjer viser minimal reparasjonsaktivitet. Denne effektive lesjonsreparasjonen forhindrer sannsynligvis dannelsen av kryssbindinger mellom strenger, og opprettholder dermed genomisk integritet og øker celleoverlevelsen. Det er viktig å merke seg at SF188 også har et høyt kromosantall (modalt antall 91) og mangler uttrykk for glialfibrillært surt protein (GFAP), noe som bekrefter dets dårlig differensierte gliomopprinnelse og gjør det til en utmerket modell for å studere samspillet mellom DNA-reparasjon og kjemoresistens i høygradige gliomer.

Organism

Menneskelig

Tissue

Hjernen, høyre frontallapp

Disease

Glioblastom

Synonyms

SF-188, SF 188

Kjennetegn

Age

8 år

Gender

Mann

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

SF188 (Cytion-katalognummer 305870)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

SF188 Celler | 305870

CellosaurusAccession CVCL_6948

Biomolekylære data

Mutational profile Mutasjon: TP53, enkel, p.Gly266Glu (c.797G>A), homozygot (PubMed=9614553, PubMed=10416987).

Håndtering

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), m: 2 mM L-Glutamin, m: 2,2 g/L NaHCO₃, m: EBSS (Cytion artikkelnummer 820100a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 26 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Seeding density 2 til 4×10^4 cell^{er}/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

SF188 Celler | 305870

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lagring ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

SF188 Celler | 305870

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.