

células 9L/lacZ | 305208**Informações gerais****Description**

A linha de células 9L/lacZ é uma linha de células de gliossarcoma de rato bem caracterizada, normalmente utilizada na investigação neurobiológica e oncológica. Originalmente derivada de um tumor cerebral de rato induzido por nitrosourea, esta linha foi modificada para expressar o gene lacZ, que codifica a enzima β -galactosidase. Esta modificação facilita o rastreio e o estudo das células tumorais in vivo, o que é particularmente útil em experiências que envolvem a progressão do tumor e as metástases. A expressão de lacZ permite a fácil identificação destas células utilizando a coloração X-gal, que torna as células azuis quando expressam β -galactosidase.

Estas células apresentam uma capacidade agressiva de formação de tumores quando implantadas em hospedeiros imunocomprometidos ou singênicos, o que as torna um modelo robusto para estudar a dinâmica do cancro do cérebro e testar estratégias terapêuticas contra os gliomas. Além disso, a linha celular 9L/lacZ tem sido utilizada em ensaios de terapia genética, nomeadamente para avaliar a eficácia de genes suicidas e outras intervenções genéticas destinadas a controlar o crescimento tumoral. Esta linha é também fundamental para compreender as interações entre as células tumorais e o sistema imunitário do hospedeiro, contribuindo assim para a compreensão das complexidades da imunologia tumoral.

Organism

Rato

Tissue

Cérebro

Disease

Glioma maligno do rato

Synonyms

9L/LacZ

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

Fischer 344

Gender

Masculino

Morphology

Fibroblastos

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares**Citation**

9L/lacZ (número de catálogo 305208 da Cytion)

Biosafety level

1

células 9L/lacZ | 305208**NCBI_TaxID** 10116**CellosaurusAccession** CVCL_5656

GMO Status GMO-S1: Esta linha celular de glioma de rato (9L/lacZ) contém os genes lacZ e Tn5-neo entregues através de um vetor retroviral BAG com deficiência de replicação, permitindo a expressão da β -galactosidase e a resistência à neomicina. A modificação é estável em células de glioma 9L. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO₃, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:5

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

células 9L/lacZ | 305208**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

células 9L/lacZ | 305208

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.