

Bunky SF188 | 305870**Všeobecné informácie****Description**

Bunka SF188 je model ľudského glioblastómu multiforme (GBM), získaný od detského pacienta. Používa sa vo veľkej miere na štúdium mechanizmov rezistencie voči chemoterapii, najmä voči alkylujúcim látkam, ako je 1,3-bis(2-chlóretyl)-1-nitrozomočovina (BCNU). V porovnaní s inými bunkovými líniami odvodenými z gliómov, ako je napríklad SF126, vykazuje SF188 výrazne vyššiu rezistenciu voči cytotoxicite a genotoxicite vyvolanej BCNU. Konkrétne, SF188 vykazuje približne trojnásobne vyššiu rezistenciu v testoch prežitia a 14-násobne nižšiu náchylnosť k výmene sesterských chromatíd (SCE) vyvolanej BCNU, čo naznačuje fenotyp s vysokou toleranciou voči poškodeniu DNA.

Odolnosť línie SF188 sa pripisuje zvýšenej schopnosti opravy DNA, najmä rýchlemu a efektívnemu odstraňovaniu aduktov O⁶-alkylguanínu. Pri vystavení metylačným činidlám, ako je N-metyl-N-nitrozomočovina, bunky SF188 vykazujú výrazné odstránenie lézií O⁶-metylguanínu, zatiaľ čo citlivejšie bunkové línie vykazujú minimálnu opravnú aktivitu. Táto efektívna oprava lézií pravdepodobne zabraňuje tvorbe medzireťazcových krížových väzieb, čím sa zachováva genomická integrita a zvyšuje prežívanie buniek. Dôležité je, že SF188 vykazuje aj vysoký počet chromozómov (modálny počet 91) a chýba mu expresia kyselého gliálneho fibrilárneho proteínu (GFAP), čo potvrdzuje jeho pôvod v slabo diferencovanom glióme a robí z neho vynikajúci model na štúdium vzájomného pôsobenia medzi opravou DNA a chemorezistenciou pri gliómoch vysokého stupňa.

Organism Ľudské**Tissue** Mozog, pravý čelný lalok**Disease** Glioblastóm**Synonyms** SF-188, SF 188**Charakteristika****Age** 8 rokov**Gender** Muži**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** SF188 (katalógové číslo Cytion 305870)**Biosafety level** 1

Bunky SF188 | 305870**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6948**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: TP53, jednoduchá, p.Gly266Glu (c.797G>A), homozygotná (PubMed=9614553, PubMed=10416987).**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 26 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 2 až 4 × 10⁴ buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky SF188 | 305870

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Skladovanie pri teplote $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Bunky SF188 | 305870

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.