

Bunky T98G | 305030**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia T98G je model ľudského multiformného glioblastómu získaný od 61-ročného muža. Bola vytvorená na štúdium molekulárnych mechanizmov tumorigenézy, bunkovej proliferácie a transformácie. Bunky T98G vykazujú jedinečnú kombináciu normálnych aj transformovaných bunkových charakteristík, čo z nich robí cenný model na skúmanie biológie rakoviny. Konkrétne, hoci sú bunky T98G nesmrteľné a schopné rastu nezávislého od ukotvenia, zachovávajú si schopnosť zastaviť G1 fázu v podmienkach stacionárnej fázy, čo je vlastnosť typická pre normálne bunky.

Pokiaľ ide o rastové charakteristiky, bunky T98G vykazujú nezávislosť od ukotvenia, čo dokazuje ich schopnosť vytvárať kolónie v polotuhom médiu metylcelulóze. Na rozdiel od mnohých transformovaných bunkových línií sa však zastavia v G1 fáze bunkového cyklu, keď sú vystavené podmienkam vysokej hustoty buniek alebo nízkej koncentrácii séra. Táto jedinečná schopnosť zastaviť G1 za týchto podmienok odlišuje T98G od iných rakovinových bunkových línií, ako sú HeLa alebo rodičovské bunky T98, ktoré sa za podobných podmienok naďalej množia. Tento fenotyp naznačuje, že hoci sú bunky T98G transformované, zachovávajú si určité regulačné mechanizmy, ktoré kontrolujú progresiu bunkového cyklu.

Cytogeneticky sú bunky T98G vysoko aneuploidné, s modálnym počtom chromozómov 124-126, čo naznačuje značnú chromozomálnu nestabilitu. Prítomnosť markerových chromozómov a miniatúrnych chromozómov v ich karyotype ďalej odráža genetické zmeny bežne spojené s multiformným glioblastómom. Napriek svojej transformovanej a aneuploidnej povahe nie sú bunky T98G pri injekčnom podaní nahým myšiam nádorovo aktívne, čo dokazuje, že samotná nezávislosť od ukotvenia nie je dostatočná pre nádorovú aktivitu.

Bunková línia T98G slúži ako dôležitý nástroj na štúdium progresie glioblastómu, regulácie bunkového cyklu a interakcie medzi normálnym a transformovaným bunkovým správaním. Jej schopnosť zachovať si aspekty normálneho zastavenia G1 z nej robí obzvlášť užitočný model na skúmanie mechanizmov, ktoré sú základom bunkovej transformácie, kontrolných bodov bunkového cyklu a terapeutických cieľov pre glioblastóm.

Organism Ľudské**Tissue** Mozog**Disease** Glioblastóm**Synonyms** T 98 G, T-98G, T98 G, T98-G**Charakteristika****Age** 61 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Európska**Morphology** Fibroblasty

Bunky T98G | 305030**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** T98G (katalógové číslo Cytion 305030)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0556**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 40 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 odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky T98G | 305030

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.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

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.

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.

Bunky T98G | 305030

Storage Conditions

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

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

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.