

HS-695T šūnas | 300211

Vispārīga informācija

Description

HS-695T šūnu līnija ir iegūta no cilvēka melanomas - ādas vēža veida, kam raksturīga ļaundabīga melanocītu transformācija. Šīs šūnas sākotnēji tika iegūtas no pieauguša pacienta, un kopš tā laika tās ir plaši izmantotas melanomas bioloģijas, audzēju ģenēzes un vēža metastāžu pētījumos. HS-695T šūnu līnijai piemīt galvenās melanomas pazīmes, tostarp spēja strauji vairoties un veidot audzējus, ja to transplantē imūnkompromitētām pelēm. Šī šūnu līnija saglabā daudzas sākotnējā audzēja molekulārās un ģenētiskās īpašības, padarot to par vērtīgu modeli melanomas progresēšanas pamatmehānismu izpētei un potenciālo terapeitisko līdzekļu testēšanai.

HS-695T šūnas ekspresē dažādus ar melanomu saistītus marķierus, tostarp Melan-A, tirozināzi un HMB-45, kurus parasti izmanto melanocītisku audzēju identificēšanai un izpētei. Šīm šūnām ir arī zināmas mutācijas tādos gēnos kā BRAF un NRAS, kas bieži novērotas melanomā un veicina onkogēno signālu ceļu, kas nosaka audzēja augšanu un izdzīvošanu. Pētnieki izmanto HS-695T šūnu līniju, lai pētītu mērķterapijas, tostarp BRAF un MEK inhibitoru, iedarbību un pētītu rezistences veidošanos pret šo ārstēšanu. Kopumā HS-695T šūnu līnija ir ļoti svarīgs instruments melanomas pētniecībā, kas palīdz atklāt jaunas terapeitiskās stratēģijas un uzlabo mūsu izpratni par šo agresīvo vēzi.

Organism

Cilvēks

Tissue

Āda

Disease

Amelanotiskā melanoma

Metastatic site

Limfmezgls

Synonyms

Hs 695.T, Hs-695-T, Hs 695T, HS 695T, Hs695T, HS695T, HS695T, Hs695

Raksturojums

Age

26 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Epitēlijveidīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

HS-695T šūnas | 300211

Citation HS-695T (Cytion kataloga numurs 300211)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0851

Biomolekulārie dati

Protein expression P53 pozitīvs**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotipu biežuma produkts: 0.0427**Tumorigenic** Jā, imunosupresētām pelēm**Mutational profile** BRAF V600Emut**Karyotype** (P19-40) režīms = 52, ir Y hromosoma

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Noņem 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 pārklājiēt 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 2×10^4 šūnas/cm²

HS-695T šūnas | 300211

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izklaidējiet 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 atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

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% CO₂, mitrināta atmosfēra.

HS-695T šūnas | 300211

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 starpposms 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 pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.