

LCLC-103H rakud | 300169

Üldine teave

Description

LCLC-103H rakuliin on saadud suurakulise kopsukartsinoomi (LCLC) rakust, mis on spetsiaalselt loodud täiskasvanud meessoost patsiendi pleuraefusioonist, kellel on diagnoositud suurakuline kopsukartsinoom koos hiigelrakkudega. Patsient oli eelnevalt läbinud keemia- ja kiiritusravi. See rakuliin on eriti tähelepanuväärne neuroendokriinsete markerite osalise ekspressiooni poolest, mis on tavaliselt seotud väikerakk-kopsuvähi (SCLC) ja teatavate neuroendokriinsete kasvajatega. Eelkõige näitab monoklonaalse antikeha RNL-1 abil tuvastatud antigeen LCLC-103H rakkudes fokaalset pinnaekspressiooni, mis sarnaneb mõne neuroendokriinsete kartsinoomi puhul täheldatud ekspressiooniga. Ekspressioon ei ole siiski kõigis rakkudes ühtlane, mis viitab heterogeensusele rakupopulatsiooni sees.

LCLC-103H on kirjanduses kirjeldatud PAS (perioodiline hape-Schiff) negatiivsena, mis eristab seda teistest kopsuvähi alatüüpidest. Samuti on sellel märkimisväärne stroomi moodustumine, mis on selle histopatoloogilise profiili oluline tunnusjoon. Lisaks sellele on teada, et see rakuliin üleekspresseerib proto-onkogeeni MYC, mis mängib kriitilist rolli rakkude proliferatsioonis ja kasvajate tekkimises. Immunotsütokeemilised uuringud on näidanud, et LCLC-103H ei näita kogu neuroendokriinset diferentseerumist, mida SCLC-l täheldatakse, kuna tal puudub reaktsioon teiste neuroendokriinsete markerite suhtes, nagu need, mis on tuvastatud antikehade RNL-2 ja RNL-3 abil. See erinevus on oluline LCLC eristamisel SCLC-st, mis on agressiivsem ja tavaliselt tundlikum teatavate kemoterapeutiliste ainete suhtes. LCLC-103H unikaalne ekspressiooniprofiil teeb sellest väärtusliku mudeli, mille abil uurida suurakulise kopsukartsinoomi molekulaarseid ja immunoloogilisi omadusi ning selle kattumist neuroendokriinsete tunnustega.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Suurakuline kartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

Synonyms LCLC103H, suurakuline kopsuvähk-103H

Omadused

Age 61 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Pleomorfne

LCLC-103H rakud | 300169

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation LCLC-103H (Cytioni katalooginumbr 300169)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1375

Biomolekulaarsed andmed

Ploidy status Aneuploidne

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 26 tundi

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Seeding density 0,5 kuni 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

LCLC-103H rakud | 300169

Post-Thaw Recovery

Rakud taastuvad külmutamisest 24 tunni jooksul.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

LCLC-103H rakud | 300169

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.