

L-428 rakud | 300200

Üldine teave

Description

L428 rakuliin on hästi tõestatud neoplastiline rakuliin, mis on saadud naissoost patsiendi pleuraefusioonist, kellel on diagnoositud Hodgkini nodulaarse skleroseeriva tüübi haigus. Selle rakuliini loomine on andnud väärtusliku mudeli Hodgkini lümfoomi rakuliste omaduste ja molekulaarmehhanismide uurimiseks. L428 rakud sarnanevad suurel määral Reed-Sternbergi (RS) ja Hodgkini (H) rakkudele, mis on Hodgkini lümfoomi iseloomulikud rakud. Need rakud näitavad ainulaadset fenotüüpi, mis erineb tüüpilistest B-rakkudest, T-rakkudest ja teistest vereloome rakutüüpidest, mis aitab kaasa käimasolevatele aruteludele RS- ja H-rakkude täpse rakulise päritolu üle.

L428 rakuliinil on mitmeid eripäraseid tunnuseid, sealhulgas aneuploidsus ja mitmete struktuuriliste ja numbriliste kromosoomianomaaliatega esinemine, mis on selle neoplastilise iseloomu tüüpilised markerid. Nendel rakkudel puuduvad pinna- või tsütoplasmaimmunoglobuliinid (Igs), hoolimata sellest, et nad on pärit maliigsetest lümfirakkudest, mis viitab nende olulisele diferentseerumisele normaalsetest lümfirakkudest. Epstein-Barri viiruse (EBV) antigeenide, nagu EBNA ja VCA, puudumine eristab L428 täiendavalt teistest EBV-positiivsetest Hodgkini lümfoomi rakuliinidest. Rakkudel puudub ka lüsoosüümi, peroksidaasi ja kloratsetaatesterasaasi aktiivsus, mis tugevdab nende eristamist müeloidsetest rakkudest, monotsüütidest või makrofaagidest.

Morfoloogiliselt on L428 rakud erineva suurusega, alates väikestest mononukleaarsetest rakkudest kuni suurte mitmetuumalistest rakkudeni, kusjuures mõnel rakul on membraanil villoosseid vohamisi. Rakud paistavad silma ka suurte, sageli neerukujuliste nukleoolide poolest. Funktsionaalselt väljendavad L428 rakud Ia-taolisi antigeene ja T-rakkude retseptoreid, kuid neil puuduvad muud tavalised lümfoidsed ja müeloidsed markerid. See ainulaadne immunofenotüüp koos kromosomaalsete ja morfoloogiliste omadustega toetab L428 rakkude liigitamist Hodgkini lümfoomi mudeliks, eriti RS- ja H-rakkude bioloogia uurimiseks.

L428 rakuliini on laialdaselt kasutatud uuringutes Hodgkini tõve patogeneesi uurimiseks ja võimalike terapeutiliste sihtmärkide uurimiseks. Selle võime in vitro paljuneda ja ainulaadsed omadused teevad sellest liini kriitilise tähtsusega ressursi selle keerulise hematoloogilise pahaloomulise haiguse paremaks mõistmiseks.

Organism Inimene

Tissue Pleuraefusioon

Disease Hodgkini lümfoom

Synonyms L-428, L 428

Omadused

Age 37 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

L-428 rakud | 300200

Morphology Ümmargused rakud

Cell type Lümfoblastid

Growth properties Peatamine

Regulatiivsed andmed

Citation L428 (Cytioni katalooginumber 300200)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1361

Biomolekulaarsed andmed

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, 1 mM naatriumpüruvaadi, 1% NEAaga

Subculturing Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.

Seeding density 1×10^5 rakku/ml

Fluid renewal Iga 3 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Kiire

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.

L-428 rakud | 300200

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial 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 viali 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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.

Shipping Conditions

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.

L-428 rakud | 300200

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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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

HLA alleles

A*: '03:01:01
B*: '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '12:01:01
DQA1*: '05:05:01
DQB1*: '03:01:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:03:02