

SCLC-21H rakud | 300225

Üldine teave

Description

SCLC-21H rakuliin on saadud väikse rakulise kopsuvähiga (SCLC) patsiendi pleuraefusioonist, mille alatüüp on kaerarakuline kopsuvähk. See rakuliin koos SCLC-22H-ga loodi keemiaravi ajal, kusjuures SCLC-21H oli teine rakuliin, mis saadi pärast täiendavat 15-päevast ravi. Kuigi mõlemad rakuliinid pärinevad samalt patsiendilt, on neil oluliselt erinevad biokeemilised, morfoloogilised ja kineetilised omadused. Näiteks on SCLC-21H-l kiirem populatsiooni kahekordistumise aeg ja suurem kolooniate moodustamise efektiivsus võrreldes SCLC-22H-ga. Need erinevused muudavad SCLC-21H eriliseks vahendiks SCLC teatavate variantide uurimiseks.

Biokeemiliselt erineb SCLC-21H SCLC-22H-st põhiliste neuroendokriinsete markerite, nagu L-Dopa dekarboksülaasi, bombesiini ja kartsinoembrüonaalse antigeeni madala või mittemääratava taseme poolest. Mõlemad rakuliinid ekspresseerivad siiski neuronispetsiifilise enolaasi ja kreatiinkinaasi isoensüümi BB kõrget taset, mis on SCLC-le iseloomulikud markerid. Kuigi mõlemal rakuliinil esineb c-myc amplifikatsioon, sisaldab SCLC-21H täiendavat ümberkujundatud ja amplifitseeritud EcoRI c-myc fragmenti, mis rõhutab veelgi selle geneetilist eripära.

Struktuuriliselt on SCLC-21H kultuuris lødva kasvuga ning sellel on silmatorkavad tuumad ja rikkalik tsütoplasma, mis on vastuolus SCLC-22H tihedamalt pakitud morfoloogiaga. Ultrastruktuurselt tihedate tuumakeste olemasolu SCLC-21H-s kinnitab selle neuroendokriinset päritolu ja see liigitatakse SCLC ühe variantivormi esindajaks. Need eripärad teevad SCLC-21H väärtuslikuks mudeliks väikerakk-kopsuvähi variantide uurimiseks ja nende ravivastuse mõistmiseks keemiaravile.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Kartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

Synonyms SCLC21H

Omadused

Age 46 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Peatamine

SCLC-21H rakud | 300225

Regulatiivsed andmed

Citation	SCLC-21H (Cytioni katalooginumber 300225)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0024

Biomolekulaarsed andmed

Oncogenes	Myc amplifikatsioon, c-myc ekspressioon kõrge
Tumorigenic	Jah alasti hiirtel
Ploidy status	Aneuploidne
Karyotype	Modaalne kromosoomi number 42/43, vahemik 39-44. Kromosoomi deletsioon 3p.

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendatakse söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	45 tundi
Subculturing	Lisage kord või kaks korda nädalas 5 ml värsket rakukultuurikeskkonda, niipea kui kultuurikeskkond muutub happeliseks. Suculture niipea, kui on täheldatud palju väga suuri klastreid. Lahutage klastrid, kogudes rakud kokku, loputades neid üks kord kaltsiumi-/magneesiumivaba PBS-ga ja lisades 3-5 ml Accutase'i. Inkubeerige 10 minutit 37 °C juures. Pärast tsentrifuugimist kogutakse rakud kokku, resuspenseeritakse uues rakukultuurikeskkonnas ja loendatakse.
Split ratio	Soovitav on suhe 1:2 kuni 1:4

SCLC-21H rakud | 300225

Seeding density 2 kuni 4×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Rakud taastuvad külmutamisest 24-48 tunni jooksul.

Freeze medium Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumbriga 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

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 °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 °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°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

SCLC-21H rakud | 300225

Freezing Procedure

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.

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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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

STR-profiil

CSF1PO: 10
D13S317: 12
D16S539: 12
D5S818: 11,12
D7S820: 11
TH01: 9. märts
TPOX: 8,9
vWA: 17
D3S1358: 15
D21S11: 29,31,2
D18S51: 14,15
Penta E: 12,13
Penta D: 9
D8S1179: 12,13
FGA: 22
PEZ6: HROC324