

2427T rakud | 300167

Üldine teave

Description

2427T, mis pärineb 64-aastase naissoost kaukaasia patsiendi primaarsest kasvajast, kellel oli diagnoositud kopsukelmekartsinoom, on väärtuslik in vitro mudel, mis taastab algse kasvajakoe morfoloogilisi tunnuseid. 2427T rakke iseloomustab nende iseloomulik väike, ümmargune kuju ja kalduvus koonduda klastriteks, ning neil on peamised morfoloogilised tunnused, mis on iseloomulikud koldekartsinoomile (SCC).

Rakuliini 2427T iseloomulikuks tunnuseks on tsütokeratiin 5/6 (CK5/6) ekspressioon, mis on SCC päritolule viitav marker. CK5/6 heterogeenne ekspressioon viitab erinevate raku subpopulatsioonide olemasolule 2427T kultuuris, mis annab võimaluse intratumoraalse heterogeensuse edasiseks uurimiseks.

2427T immunofenotüüpiseerimine näitas selle unikaalset profiili, sealhulgas adenokartsinoomiga seotud markeri CK7, hematoendoteliaalse progenitaatorimarkeri CD34 ja leukotsüütide markeri CD45 puudumist, mis kinnitab selle liigitamist skamoosse liini hulka. Huvitav on see, et kuigi rakuliinil on üldiselt negatiivne neuroendokriinsete markerite, nagu CD56, sünaptofüsiin (SYP), neuronispetsiifiline enolaas (NSE) ja kromograniiin A (CHGA), ekspressioon, mis esineb teatud rakkude alamhulgas, viitab neuroendokriinsete markerite teatavale heterogeensusele.

Oluline on see, et rakuliinil 2427T ei ole EGF-R või k-ras mutatsioone, mis eristab seda teistest mudelitest ja rõhutab selle potentsiaali uudse ressursina mitteväikerakk-kopsuvähi (NSCLC) bioloogia ja terapeutilise haavatavuse uurimisel. See, et 2427T ei ole levinud onkogeenseid mutatsioone, muudab selle hindamatuks uurimisvahendiks, mille eesmärk on avastada lapikrakulise kartsinoomi patogeneesi ja progresseerumise aluseks olevaid mehhanisme.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Kopsu lamerakk-kartsinoom

Omadused

Age 64 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation 2427T (Cytioni katalooginumbr 300167)

2427T rakud | 300167

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_M070

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression Sünaptofüsiin (SYP)

Antigen expression CK5/6 osaline ekspressioon

Tumorigenic Väga kasvajaline alasti hiirtel.

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt 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.

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

2427T rakud | 300167

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.

2427T rakud | 300167

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*: 0,042372685, '68:01:02

B*: '07:02:01, '51:01:01

C*: '07:02:01, '15:02:01

DRB1*: '04:04:01, '11:01:01

DQA1*: '03:01:01, '05:05:01

DQB1*: '03:01:01, '03:02:01

DPB1*: '03:01:01, '04:01:01

E: '01:01:01