

LCLC-103H-solut | 300169

Yleisiä tietoja

Description

LCLC-103H-solulinja on peräisin suurisoluisesta keuhkokarsinoomasta (LCLC), joka on peräisin aikuisen miespotilaan pleuraeritteestä, jolla on diagnosoitu suurisolainen keuhkokarsinoma, jossa on jättiläissoluja. Potilas oli aiemmin saanut kemo- ja sädehoitoa. Tämä solulinja erottuu erityisesti siitä, että se ilmentää osittain neuroendokriinisiä merkkiaineita, jotka tyypillisesti liittyvät pienisoluisen keuhkosityöpään (SCLC) ja tiettyihin neuroendokriinisiin kasvaimiin. Erityisesti monoklonalisella vasta-aineella RNL-1 havaittu antigeeni ilmentyy LCLC-103H:n soluissa keskitetysti pinnalla, kuten joissakin neuroendokriinisissä karsinoomissa on havaittu. Ekspresio ei kuitenkaan ole yhtenäinen kaikissa soluissa, mikä viittaa solupopulaation sisäiseen heterogeenisuuteen.

LCLC-103H on kirjallisuudessa kuvattu PAS-negatiiviseksi (Periodic Acid-Schiff), mikä erottaa sen muista keuhkosityövän alatyypeistä. Siinä on myös huomattavaa strooman muodostumista, mikä on merkittävä piirre sen histopatologisessa profiilissa. Lisäksi tämän solulinjan tiedetään yliekspressoivan MYC-protokogeneenia, jolla on kriittinen rooli solujen lisääntymisessä ja kasvainten synnyssä. Immunosytokemialliset tutkimukset ovat osoittaneet, että LCLC-103H:lla ei ole SCLC:ssä havaittavaa neuroendokriinisen erilaistumisen koko kirjoa, sillä se ei reagoi muihin neuroendokriinisiin merkkiaineisiin, kuten RNL-2- ja RNL-3-vasta-aineiden tunnistamiin merkkiaineisiin. Tämä ero on ratkaisevan tärkeä LCLC:n erottamiseksi SCLC:stä, joka on aggressiivisempi ja tyypillisesti herkempi tietyille kemoterapeuttisille aineille. LCLC-103H:n ainutlaatuinen ilmentymisprofiili tekee siitä arvokkaan mallin suurisoluisen keuhkosityövän molekulaaristen ja immunologisten ominaisuuksien ja sen neuroendokriinisten piirteiden päällekkäisyyden tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Keuhkot

Disease Suurisoluinen karsinoma

Metastatic site Pleuraeffuusio

Synonyms LCLC103H, suurisolainen keuhkosityöpä-103H

Ominaisuudet

Age 61 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Morphology Pleomorfinen

LCLC-103H-solut | 300169

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation LCLC-103H (Cytionin luettelonumero 300169)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1375

Biomolekyyli tiedot

Ploidy status Aneuploidinen

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 26 tuntia

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Seeding density 0,5-1 x 10⁴ solua/cm²

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

LCLC-103H-solut | 300169

Post-Thaw Recovery

Solut toipuvat jäädytyksestä 24 tunnin kuluessa.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

LCLC-103H-solut | 300169

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.