

SCLC-21H-solut | 300225

Yleisiä tietoja

Description

SCLC-21H-solulinja on peräisin pienisoluista keuhkosityöpää (SCLC) sairastavan, kaurasolujen alatyyppiin kuuluvaa keuhkosityöpää sairastavan potilaan pleuraeritteestä. Tämä solulinja ja SCLC-22H muodostettiin kemoterapian aikana, ja SCLC-21H oli toinen solulinja, joka saatiin 15 päivän lisähoidon jälkeen. Vaikka molemmat solulinjat ovat peräisin samalta potilaalta, niillä on merkittävästi erilaisia biokemiallisia, morfologisia ja kineettisiä ominaisuuksia. SCLC-21H:lla on esimerkiksi nopeampi populaation kaksinkertaistumisaika ja korkeampi pesäkkeiden muodostustehokkuus kuin SCLC-22H:lla. Nämä erot tekevät SCLC-21H:sta erityisen työkalun SCLC:n tiettyjen muunnosmuotojen tutkimiseen.

Biokemiallisesti SCLC-21H eroaa SCLC-22H:sta siinä, että sen keskeisten neuroendokriinisten merkkiaineiden, kuten L-Dopa-dekarboksylaasin, bombesiinin ja karsinoembryonisen antigeenin, pitoisuudet ovat alhaiset tai niitä ei voida havaita. Molemmat solulinjat ilmentävät kuitenkin suuria määriä neuronispesifistä enolaasia ja kreatiiniikinaasin isoentsyymiä BB, jotka ovat SCLC:lle tyypillisiä merkkiaineita. Lisäksi vaikka molemmissa solulinjoissa esiintyy c-myc-monistumista, SCLC-21H:ssa on lisäksi uudelleenjärjestäytynyt ja monistunut EcoRI-c-myc-fragmentti, mikä korostaa entisestään sen geneettistä ainutlaatuisuutta.

Rakenteellisesti SCLC-21H:n kasvu on löysää viljelyssä, ja siinä on näkyvät tumat ja runsaasti sytoplasmaa, mikä on ristiriidassa SCLC-22H:n tiiviimmän morfologian kanssa. Ultrarakenteellisesti tiheiden ydinrakeiden esiintyminen SCLC-21H:ssa vahvistaa sen neuroendokriinisen alkuperän, ja se luokitellaan SCLC:n muunnosmuodoksi. Nämä erityispiirteet tekevät SCLC-21H:sta arvokkaan mallin, jonka avulla voidaan tutkia pienisoluisen keuhkosityövän muunnosmuotoja ja ymmärtää niiden vastetta kemoterapiaan.

Organism Ihminen

Tissue Keuhkot

Disease Syöpä

Metastatic site Pleuraeffuusio

Synonyms SCLC21H

Ominaisuudet

Age 46 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Jousitus

SCLC-21H-solut | 300225

Säätelytiedot

Citation	SCLC-21H (Cytionin luettelonumero 300225)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0024

Biomolekyyli tiedot

Oncogenes	Myc-monistuminen, c-myc-ekspressio korkea
Tumorigenic	Kyllä alastomilla hiirillä
Ploidy status	Aneuploidinen
Karyotype	Modaalinen kromosomiluku 42/43, vaihteluväli 39-44. Kromosomin 3p deletio.

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Lisätään elatusaineeseen 10 % lämpöinaktivoitua FBS:ää
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	45 tuntia
Subculturing	Kerran tai kahdesti viikossa lisätään 5 ml tuoretta soluviljelyalustaa heti, kun elatusaine happamoituu. Subculture heti, kun havaitaan useita hyvin suuria klustereita. Klusterit hajotetaan keräämällä solut, huuhtelemalla kerran kalsium-/magnesiumittomalla PBS:illä ja lisäämällä 3-5 ml Accutaseaasia. Inkuboidaan 10 minuuttia 37 asteessa. Kerätään solut sentrifugoinnin jälkeen, suspendoidaan uudelleen tuoreeseen soluviljelyaineeseen ja lasketaan.
Split ratio	Suosittelava suhde on 1:2–1:4

SCLC-21H-solut | 300225**Seeding density** 2–4 x 10⁴ solua/cm²**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Solut toipuvat jäädytyksestä 24-48 tunnin kuluessa.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.**Thawing and Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäästä 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.

SCLC-21H-solut | 300225**Flask Coating** Ei mitään**Freezing Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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 määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

STR-profiili

CSF1PO: 10
D13S317: 12
D16S539: 12
D5S818: 11,12
D7S820: 11
TH01: 9. maaliskuuta
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