

2427T Kennot | 300167

Yleisiä tietoja

Description

2427T on peräisin 64-vuotiaan valkoihoisen naisen primaarikasvaimesta, jolla oli diagnosoitu keuhkojen levyepiteelisolusyöpä, ja se on arvokas in vitro -malli, joka toistaa alkuperäisen kasvainkudoksen morfologiset piirteet. 2427T:n soluille on ominaista niiden pieni, pyöreä muoto ja taipumus kasautua klustereiksi, ja niillä on keskeisiä levyepiteelikarsinoomalle tyypillisiä morfologisia piirteitä.

2427T-solulinjan tunnusmerkkinä on sytokeratiini 5/6:n (CK5/6) ilmentyminen, joka on SCC-alkuperää osoittava merkkiaine. CK5/6:n heterogeeninen ilmentyminen viittaa siihen, että 2427T-viljelmässä on erilaisia solujen osapopulaatioita, mikä tarjoaa mahdollisuuden tutkia edelleen solunsisäistä heterogeenisuutta.

2427T:n immunofenotyyppin määrittäminen on paljastanut sen ainutlaatuisen profiilin, mukaan lukien adenokarsinomaan liittyvän CK7-markkerin, hemato-endoteeliproduktiomarkkerin CD34 ja leukosyyttien CD45-markkerin puuttumisen, mikä vahvistaa sen luokittelua levyepiteelilinjaan. Mielenkiintoista on, että vaikka solulinja osoittaa yleensä negatiivisuutta neuroendokriinisten merkkiaineiden, kuten CD56:n, synaptofysiinin (SYP), neuronispesifisen enolaasin (NSE) ja kromograniniini A:n (CHGA) suhteen, SYP:n ilmentyminen osassa soluja viittaa jonkinasteiseen neuroendokriinisten merkkiaineiden heterogeenisuuteen.

Ratkaisevaa on, että 2427T-solulinjassa ei ole EGF-R- tai k-ras-mutaatioita, mikä erottaa sen muista malleista ja korostaa sen potentiaalia uutena resurssina, jonka avulla voidaan tutkia ei-pienisoluisen okasolusyövän (NSCLC) biologiaa ja terapeuttisia haavoittuvuuksia. Yleisten onkogeenisten mutaatioiden puuttuminen tekee 2427T:stä korvaamattoman arvokkaan välineen tutkimukseen, jolla pyritään paljastamaan levyepiteelisolusyövän patogeneesin ja etenemisen taustalla olevia mekanismeja.

Organism Ihminen

Tissue Keuhkot

Disease Keuhkojen okasolusyöpä

Ominaisuudet

Age 64 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation 2427T (Cytionin luettelonumero 300167)

2427T Kennot | 300167

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_M070

Biomolekyylitiedot

Protein expression Synaptofysiini (SYP)

Antigen expression CK5/6:n osittainen ilmentyminen

Tumorigenic Erittäin tumorigeeninen nude-hiirissä.

Käsittely

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

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 väliaineita.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

2427T Kennot | 300167

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

2427T Kennot | 300167

**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

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittäyksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

HLA-alleelit

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