

LCLC-103H šūnas | 300169

Vispārīga informācija

Description

LCLC-103H šūnu līnija ir iegūta no lielšūnu plaušu karcinomas (LCLC), kas īpaši izveidota no pleiras izplūduma pieaugušam vīrietim ar diagnozi lielšūnu plaušu karcinoma ar milzu šūnām. Pacientam iepriekš bija veikta ķīmijterapija un staru terapija. Šī šūnu līnija īpaši izceļas ar daļēju neuroendokrīno marķieru ekspresiju, kas parasti ir saistīti ar mazšūnu plaušu vēzi (SCLC) un dažiem neuroendokrīniem audzējiem. Jo īpaši ar monoklonālo antivielu RNL-1 noteiktajam antigēnam LCLC-103H šūnās ir fokāla virsmas ekspresija, līdzīga tai, kas novērota dažos neuroendokrīnos karcinomos. Tomēr ekspresija nav vienmērīga visās šūnās, kas norāda uz šūnu populācijas heterogenitāti.

Literatūrā LCLC-103H ir aprakstīts kā PAS (periodiskā skābes-Schiff) negatīvs, kas to atšķir no citiem plaušu vēža apakštipiem. Tam ir arī ievērojama stromas veidošanās, kas ir nozīmīga tā histopatoloģiskā profila iezīme. Turklāt ir zināms, ka šī šūnu līnija pārmērīgi ekspresē protoonkogēnu MYC, kam ir būtiska nozīme šūnu proliferācijā un audzēju rašanās procesā. Imunocitoķīmiskie pētījumi ir parādījuši, ka LCLC-103H neizpauž pilnu neuroendokrīnās diferenciacijas spektru, kas novērojams SCLC, jo tai trūkst reaktivitātes ar citiem neuroendokrīnajiem marķieriem, piemēram, ar antivielām RNL-2 un RNL-3 identificētajiem. Šī atšķirība ir būtiska, lai LCLC atšķirtu no SCLC, kas ir agresīvāks un parasti ir jutīgāks pret noteiktiem ķīmijterapeitiskiem līdzekļiem. LCLC-103H unikālais ekspresijas profils padara to par vērtīgu modeli lielšūnu plaušu karcinomas molekulāro un imunoloģisko īpašību un tās pārklāšanās ar neuroendokrīnajām pazīmēm izpētei.

Organism Cilvēks

Tissue Plaušas

Disease Lielo šūnu karcinoma

Metastatic site Pleiras izsvīdums

Synonyms LCLC103H, Lielo šūnu plaušu vēzis-103H

Raksturojums

Age 61 gads

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Pleomorfs

Growth properties Adherent

LCLC-103H šūnas | 300169

Normatīvie dati

Citation	LCLC-103H (Cytion kataloga numurs 300169)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1375

Biomolekulārie dati

Ploidy status	Aneuploīds
----------------------	------------

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	26 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Seeding density	0,5 līdz 1×10^4 šūnas/cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Post-Thaw Recovery	Šūnas pēc sasaldēšanas atveseļojas 24 stundu laikā.

LCLC-103H šūnas | 300169**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

LCLC-103H šūnas | 300169

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.