

LCLC-97TM1 šūnas | 300409

Vispārīga informācija

Description

LCLC-97TM1 šūnu līnija ir iegūta no lielšūnu plaušu karcinomas (LCLC), un tā tika izveidota, izmantojot ksenogrāfta metodi, konkrēti, no primārās lielšūnu karcinomas pirmās nude peles pasāžas. Šai šūnu līnijai kultūrā ir raksturīgas blīvi sablīvētas epitēlioidas saliņas ar šūnu robežām, kas parasti nav atšķiramas, veicot standarta mikroskopisko izmeklēšanu. Atšķirībā no daudzām citām šūnu līnijām LCLC-97TM1 kultūras parasti nesasniedz konfluenci, ko var izskaidrot ar to unikālo augšanas modeli.

Citoloģiski LCLC-97TM1 šūnām ir raksturīgs liels, vienots, apaļš kodols ar vienu vai diviem izteiktiem kodoliem un vienmērīgi izkliedēts hromatīna raksts. Šāda kodola morfoloģija liecina par agresīvu raksturu, kas bieži vien ir saistīts ar lielšūnu plaušu karcinomu. Šūnu līnija ir arī PAS (periodiskās skābes-Šifa) negatīva un nereaģē ar Alciāna zilo krāsojumu, kas atbilst gan sākotnējā audzējā, gan no šūnu līnijas iegūtajā ksenotādā, novērotajām īpašībām.

LCLC-97TM1 hromosomu analīze atklāj tā sarežģīto kariotipu, kas raksturīgs lielšūnu karcinomiem un liecina par ievērojamu ģenētisko nestabilitāti. Šis ģenētiskais profils kopā ar atšķirīgajām morfoloģiskajām iezīmēm padara LCLC-97TM1 par vērtīgu modeli, lai pētītu lielo plaušu karcinomas patobioloģiju, jo īpaši saistībā ar audzēju ģenēzi, metastāzēm un terapeitisko atbildes reakciju uz plaušu vēzi, kas nav mazo šūnu plaušu vēzis (NSCLC).

Organism Cilvēks

Tissue Plaušas

Disease Lielo šūnu karcinoma

Synonyms LCLC97TM1

Raksturojums

Age 44 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

LCLC-97TM1 šūnas | 300409

Citation LCLC-97TM1 (Cytion kataloga numurs 300409)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1376**Biomolekulārie dati****Protein expression** P53 ekspresija**Tumorigenic** Jā, kailām pelēm**Reverse transcriptase** Negatīvs**Darbs ar****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem 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** 1 līdz 3×10^5 šūnas/cm²**Fluid renewal** Ik pēc 3 līdz 5 dienām**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

LCLC-97TM1 šūnas | 300409

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

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

LCLC-97TM1 šūnas | 300409**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 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

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

HLA alēles

A*: '02:01:01, '24:02:01

B*: '15:01:01, '18:01:01

C*: '03:03:01, '12:03:01

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

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

DQB1*: '03:02:01, '05:01:01

DPB1*: '04:02:01

E: '01:03:02