

LXF-289 šūnas | 300269

Vispārīga informācija

Description

LxF-289 šūnu līnija ir cilvēka plaušu adenokarcinomas šūnu līnija, kas iegūta no 63 gadus veca vīrieša. Šai šūnu līnijai ir aptuveni 50 stundu dubultošanās laiks, tāpēc tā ir piemērota pētījumiem, kuros nepieciešama pastāvīga šūnu proliferācija. LxF-289 ir īpaši vērtīga pētījumos, kas vērsti uz plaušu vēzi, jo īpaši nesmalto šūnu plaušu vēzi (NSCLC), jo tā nodrošina stabilu in vitro modeli vēža progresēšanas molekulāro mehānismu, rezistences pret ārstēšanu un terapeitisko iejaukšanos ietekmes izpētei.

Pētījumi ar LxF-289 ir pierādījuši, ka šai šūnu līnijai piemīt īpašības, kas padara to jutīgu pret īpašām ģenētiskām un terapeitiskām manipulācijām. Piemēram, pētījumi liecina, ka LxF-289 kopā ar citām plaušu vēža šūnu līnijām var būtiski bojāties, ja tās tiek apstrādātas ar adenovīrusu, kas ekspresē antisensu siltuma šoka proteīnu 70 (Hsp70). Šāda šūnu nāve nav atkarīga no p53, un tai nav nepieciešama DNS skaldīšana, kas liecina, ka Hsp70 ir būtiska loma plaušu vēža šūnu izdzīvošanā. Jāatzīmē, ka šī reakcija ir selektīva attiecībā uz vēža šūnām, jo normāliem plaušu fibroblastiem un bronhu epitēlija šūnām nav līdzīga citotoksicitātes līmeņa, ja Hsp70 tiek samazināts, tādējādi uzsverot Hsp70 izmantošanas potenciālu plaušu vēža terapijā.

Turklāt LxF-289 ir izmantots, lai pētītu apstārošanas ietekmi uz olbaltumvielām, kas saistītas ar rezistenci pret zālēm. Šai šūnu līnijai pēc apstārošanas tika konstatēta glutatona S-transferāzes (GSTπ) hiperekspresija gan mRNS, gan proteīnu līmenī. Šī hiperekspresija ir saistīta ar multirezistences attīstību, kas ir būtiska problēma plaušu vēža klīniskajā ārstēšanā. Šie atklājumi uzsvēr LxF-289 lietderību rezistences mehānismu izpētē un jaunu stratēģiju izmēģināšanā, lai to pārvarētu.

Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Disease	Adenokarcinoma
Synonyms	LxF289, LxF 289, LxF 289L

Raksturojums

Age	62 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

LXF-289 šūnas | 300269

Normatīvie dati

Citation	LxF-289 (Cytion kataloga numurs 300269)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1394

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Jā, kailām pelēm
Reverse transcriptase	Negatīvs

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
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielīpušajām 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 x 10 ⁴ šūnas/ml
Fluid renewal	Ik pēc 3 līdz 5 dienām
Post-Thaw Recovery	24 līdz 48 stundas

LXF-289 šūnas | 300269

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**.

LXF-289 šūnas | 300269

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.