

L-428 Celler | 300200

Generell informasjon

Description

L428-cellelinjen er en veletablert neoplastisk cellelinje som stammer fra pleuraeffusjonen til en kvinnelig pasient som fikk diagnosen Hodgkins sykdom av nodulær skleroserende type. Etableringen av denne cellelinjen har gitt oss en verdifull modell for å studere de cellulære egenskapene og molekylære mekanismene som ligger til grunn for Hodgkins lymfom. L428-celler ligner Reed-Sternberg (RS)- og Hodgkin (H)-celler, som er kjennetegnende celler ved Hodgkins lymfom. Disse cellene har en unik fenotype som skiller seg fra typiske B-celler, T-celler og andre hematopoietiske celletyper, noe som har bidratt til den pågående debatten om RS- og H-cellenes eksakte cellulære opprinnelse.

L428-cellelinjen har flere særegne kjennetegn, blant annet aneuploidi og tilstedeværelse av flere strukturelle og numeriske kromosomavvik, som er typiske markører for dens neoplastiske natur. Disse cellene mangler overflate- eller cytoplasmatiske immunglobuliner (Igs), til tross for at de stammer fra en lymfoid malignitet, noe som tyder på en betydelig differensiering fra normale lymfoide celler. Fraværet av Epstein-Barr-virus (EBV)-antigener, som EBNA og VCA, skiller L428 ytterligere fra andre EBV-positive Hodgkins lymfomcellelinjer. Cellene mangler også lysozym-, peroksidase- og kloracetatesteraseaktivitet, noe som forsterker skillet fra myeloide celler, monocytter eller makrofager.

Morfologisk varierer L428-cellene i størrelse, fra små mononukleære celler til store flerkjernede celler, og noen av cellene har villøse utvekster på membranen. Cellene er også kjennetegnet av store, ofte nyreformede nukleoler. Funksjonelt uttrykker L428-celler la-lignende antigener og T-cellerreseptorer, men mangler andre vanlige lymfoide og myeloide markører. Denne unike immunfenotypen, kombinert med de kromosomale og morfologiske trekkene, støtter klassifiseringen av L428 som en modell for Hodgkins lymfom, spesielt for studier av RS- og H-cellenes biologi.

L428-cellelinjen har blitt brukt i utstrakt grad i forskning for å utforske patogenesen ved Hodgkins sykdom og for å undersøke potensielle terapeutiske mål. Cellelinjens evne til å spre seg in vitro og dens unike egenskaper gjør den til en viktig ressurs for å øke forståelsen av denne komplekse hematologiske maligniteten.

Organism Menneskelig

Tissue Pleuraeffusjon

Disease Hodgkin-lymfom

Synonyms L-428, L 428

Kjennetegn

Age 37 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

L-428 Celler | 300200**Morphology** Runde celler**Cell type** Lymfoblast**Growth properties** Oppheng**Regulatoriske data****Citation** L428 (Cytion-katalognummer 300200)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1361**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS, 1 mM natriumpyruvat, 1 % NEAA**Subculturing** Oppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.**Seeding density** 1×10^5 celler/ml**Fluid renewal** Hver tredje dag**Post-Thaw Recovery** Rask**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

L-428 Celler | 300200

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

L-428 Celler | 300200

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

CSF1PO: 10,13
D13S317: 14,14
D16S539: 11,12
D5S818: 11,12
D7S820: 11,11
TH01: 7,9,3
TPOX: 8,9
vWA: 15
D3S1358: 14,18
D21S11: 31.2,31.2
D18S51: 14,14
Penta E: 10,17
Penta D: 8,9
D8S1179: 14,14
FGA: 19,25

HLA-alleler

A*: '03:01:01
B*: '35:03:01
C*: '04:01:01
DRB1*: '12:01:01
DQA1*: '05:05:01
DQB1*: '03:01:01
DPB1*: '04:01:01
E: '01:03:02