

Komórki LCLC-103H | 300169

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa LCLC-103H wywodzi się z wielkokomórkowego raka płuca (LCLC), specjalnie utworzonego z wysięku opłucnowego dorosłego mężczyzny z rozpoznaniem wielkokomórkowego raka płuca z komórkami olbrzymimi. Pacjent był wcześniej poddawany chemioterapii i radioterapii. Ta linia komórkowa jest szczególnie godna uwagi ze względu na częściową ekspresję markerów neuroendokrynnych, które są zwykle związane z drobnokomórkowym rakiem płuc (SCLC) i niektórymi guzami neuroendokrynnymi. W szczególności antygen wykrywany przez przeciwciało monoklonalne RNL-1 wykazuje ogniskową ekspresję powierzchniową w komórkach LCLC-103H, podobną do obserwowanej w niektórych rakach neuroendokrynnych. Jednak ekspresja nie jest jednolita we wszystkich komórkach, co wskazuje na heterogenność w populacji komórek.

LCLC-103H został opisany w literaturze jako PAS (Periodic Acid-Schiff) ujemny, co odróżnia go od innych podtypów raka płuc. Wykazuje również niezwykle tworzenie zrębu, co jest istotną cechą jego profilu histopatologicznego. Ponadto wiadomo, że ta linia komórkowa wykazuje nadekspresję protoonkogenu MYC, który odgrywa kluczową rolę w proliferacji komórek i nowotworzeniu. Badania immunocytochemiczne wykazały, że LCLC-103H nie wykazuje pełnego spektrum różnicowania neuroendokrynnego obserwowanego w SCLC, ponieważ brakuje mu reaktywności z innymi markerami neuroendokrynnymi, takimi jak te identyfikowane przez przeciwciała RNL-2 i RNL-3. To rozróżnienie ma kluczowe znaczenie dla odróżnienia LCLC od SCLC, który jest bardziej agresywny i zazwyczaj wykazuje wyższą wrażliwość na niektóre środki chemioterapeutyczne. Unikalny profil ekspresji LCLC-103H czyni go cennym modelem do badania molekularnych i immunologicznych cech wielkokomórkowego raka płuc i jego nakładania się z cechami neuroendokrynnymi.

Organism Człowiek

Tissue Płuco

Disease Rak wielkokomórkowy

Metastatic site Wysiłek opłucnowy

Synonyms LCLC103H, wielkokomórkowy rak płuca-103H

Charakterystyka

Age 61 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Morphology Pleomorf

Komórki LCLC-103H | 300169

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation LCLC-103H (numer katalogowy Cytion 300169)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1375

Dane biomolekularne

Ploidy status Aneuploid

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzuppełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 26 godzin

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6

Seeding density 0,5 do 1×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Komórki LCLC-103H | 300169**Post-Thaw Recovery**

Komórki zregenerują się po zamrożeniu w ciągu 24 godzin.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki LCLC-103H | 300169

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11
D16S539: 13
D5S818: 12
D7S820: 8,11
TH01: 6
TPOX: 8
vWA: 14,16
D3S1358: 16,17
D21S11: 29,31.2
D18S51: 19
D8S1179: 12,14
FGA: 22
D2S1338: 16,19
D19S433: 15
PEZ6: CERV-215