

Komórki L-428 | 300200

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa L428 jest dobrze znaną nowotworową linią komórkową pochodzącą z wysięku opłucnowego pacjentki, u której zdiagnozowano chorobę Hodgkina o typie stwardnienia guzowatego. Ustanowienie tej linii komórkowej zapewniło cenny model do badania cech komórkowych i mechanizmów molekularnych leżących u podstaw chłoniaka Hodgkina. Komórki L428 ściśle przypominają komórki Reeda-Sternberga (RS) i Hodgkina (H), które są charakterystycznymi komórkami chłoniaka Hodgkina. Komórki te wykazują unikalny fenotyp różniący się od typowych limfocytów B, limfocytów T i innych typów komórek krwiotwórczych, przyczyniając się do trwających debat na temat dokładnego pochodzenia komórkowego komórek RS i H.

Linia komórkowa L428 wykazuje kilka charakterystycznych cech, w tym aneuploidię i obecność wielu strukturalnych i numerycznych nieprawidłowości chromosomalnych, które są typowymi markerami jej nowotworowego charakteru. Komórki te nie posiadają powierzchniowych lub cytoplazmatycznych immunoglobulin (Igs), pomimo ich pochodzenia ze złośliwego nowotworu limfoidalnego, co sugeruje znaczne zróżnicowanie od normalnych komórek limfoidalnych. Brak antygenów wirusa Epsteina-Barra (EBV), takich jak EBNA i VCA, dodatkowo odróżnia L428 od innych EBV-dodatnich linii komórkowych chłoniaka Hodgkina. Komórki te nie wykazują również aktywności lizozymu, peroksydazy i esterazy chlorooctanowej, co odróżnia je od komórek mieloidalnych, monocytów i makrofagów.

Pod względem morfologii komórki L428 wykazują szereg rozmiarów, od małych komórek jednojądrzastych do dużych komórek wielojądrzastych, przy czym niektóre komórki wykazują wypustki na błonach. Komórki te wyróżniają się również dużymi, często nerkowatymi jąderkami. Funkcjonalnie, komórki L428 wyrażają antygeny podobne do Ia i receptory komórek T, ale są pozbawione innych powszechnych markerów limfoidalnych i szpikowych. Ten unikalny immunofenotyp, w połączeniu z cechami chromosomalnymi i morfologicznymi, wspiera klasyfikację L428 jako modelu chłoniaka Hodgkina, szczególnie do badania biologii komórek RS i H.

Linia komórkowa L428 była szeroko wykorzystywana w badaniach w celu zbadania patogenyzy choroby Hodgkina i zbadania potencjalnych celów terapeutycznych. Jej zdolność do proliferacji in vitro i unikalne właściwości sprawiają, że jest ona kluczowym źródłem wiedzy na temat tego złożonego nowotworu hematologicznego.

Organism	Człowiek
Tissue	Wysięk opłucnowy
Disease	Chłoniak Hodgkina
Synonyms	L-428, L 428

Charakterystyka

Age	37 lat
Gender	Kobieta

Komórki L-428 | 300200**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Okrągłe komórki**Cell type** Limfoblast**Growth properties** Zawieszenie**Dane regulacyjne****Citation** L428 (numer katalogowy Cytion 300200)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1361**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzuppełnić pożywkę 10% FBS, 1 mM pirogronianu sodu, 1% NEAA**Subculturing** Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości 5×10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3×10^5 do 1×10^6 komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.**Seeding density** 1×10^5 komórek/ml**Fluid renewal** Co 3 dni**Post-Thaw Recovery** Szybko

Komórki L-428 | 300200**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 zawiesinowych, 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 L-428 | 300200

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 fiolki 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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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

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

Komórki L-428 | 300200

Allele HLA

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