

Células SCLC-21H | 300225**Informações gerais****Description**

A linha celular SCLC-21H foi derivada da efusão pleural de um doente com cancro do pulmão de pequenas células (SCLC) do subtipo oat cell. Esta linha celular, juntamente com a SCLC-22H, foi estabelecida durante um período de quimioterapia, sendo a SCLC-21H a segunda a ser derivada após 15 dias adicionais de tratamento. Embora ambas as linhas celulares tenham tido origem no mesmo doente, apresentam propriedades bioquímicas, morfológicas e cinéticas significativamente diferentes. A SCLC-21H, por exemplo, tem um tempo de duplicação da população mais rápido e uma maior eficiência de formação de colónias em comparação com a SCLC-22H. Estas diferenças fazem do SCLC-21H uma ferramenta distinta para o estudo de certas formas variantes de SCLC.

Bioquimicamente, a SCLC-21H difere da SCLC-22H pelos seus níveis baixos ou indetectáveis de marcadores neuroendócrinos fundamentais, como a L-Dopa descarboxilase, a bombesina e o antigénio carcinoembrionário. No entanto, ambas as linhas celulares expressam níveis elevados de enolase específica dos neurónios e da isoenzima BB da creatina quinase, que são marcadores caraterísticos do CPPC. Além disso, embora ambas as linhas celulares apresentem amplificação do c-myc, o SCLC-21H contém um fragmento EcoRI c-myc adicional rearranjado e amplificado, o que realça ainda mais a sua singularidade genética.

Estruturalmente, a SCLC-21H apresenta um crescimento frouxo em cultura e apresenta nucléolos proeminentes e citoplasma abundante, contrastando com a morfologia mais compactada da SCLC-22H. A presença de grânulos centrais ultra-estruturais densos no SCLC-21H confirma a sua origem neuroendócrina, sendo classificado como representando uma forma variante de SCLC. Estas caraterísticas distintas fazem do SCLC-21H um modelo valioso para explorar as formas variantes do cancro do pulmão de pequenas células e compreender a sua resposta à quimioterapia.

Organism Humano**Tissue** Pulmão**Disease** Carcinoma**Metastatic site** Derrame pleural**Synonyms** SCLC21H**Caraterísticas****Age** 46 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano

Células SCLC-21H | 300225

Growth properties Suspensão

Dados regulamentares

Citation SCLC-21H (número de catálogo Cytion 300225)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0024

Dados biomoleculares

Oncogenes Amplificação de Myc presente, expressão de c-myc elevada

Tumorigenic Sim, em ratinhos nus

Ploidy status Aneuploide

Karyotype Número cromossômico modal 42/43, intervalo 39-44. Deleção do cromossoma 3p.

Manuseamento

Culture Medium RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS inativado pelo calor

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 45 horas

Subculturing Uma ou duas vezes por semana, adicionar 5 ml de meio de cultura de células fresco, logo que o meio de cultura se torne ácido. Fazer sucultura logo que se observem muitos aglomerados muito grandes. Dissociar os aglomerados recolhendo as células, lavando uma vez com PBS sem cálcio/magnésio e adicionando 3-5 ml de Accutase. Incubar durante 10 minutos a 37 graus Celsius. Recolher as células após centrifugação, ressuspender em meio de cultura celular fresco e contar.

Células SCLC-21H | 300225

Split ratio Recomenda-se uma proporção de 1:2 a 1:4

Seeding density 2 a 4 x 10⁴ células/cm²

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery As células recuperam da congelação em 24 a 48 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Células SCLC-21H | 300225

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating Nenhum

Freezing Procedure As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Células SCLC-21H | 300225

Perfil STR

CSF1PO: 10
D13S317: 12
D16S539: 12
D5S818: 11,12
D7S820: 11
TH01: 9 de março
TPOX: 8,9
vWA: 17
D3S1358: 15
D21S11: 29,31,2
D18S51: 14,15
Penta E: 12,13
Penta D: 9
D8S1179: 12,13
FGA: 22
PEZ6: HROC324