

Клетки NCI-H2452 | 300391

Обща информация

Description

Клетъчната линия NCI-H2452 е човешка клетъчна линия за малигнен плеврален мезотелиом, която е получена от плеврата на пациент с мезотелиом. Тя често се използва в изследвания, насочени към разбиране на патофизиологията на мезотелиома и разработване на нови терапевтични подходи. Подобно на други клетъчни линии за мезотелиом, NCI-H2452 е свързана с експозиция на азбестови влакна - добре установен рисков фактор за мезотелиом. Проучванията, включващи NCI-H2452, подчертават нейната полезност за изследване на механизмите на прогресия на заболяването и отговора към различни терапии, особено генни терапии и вирусни подходи за онколиза.

Клетките на NCI-H2452 експресират Коксаки и аденовирусен рецептор (CAR) и CD46, което ги прави подходящи кандидати за проучвания за генна терапия, базирана на аденовирус. В изследванията, посветени на онколитичната вирусотерапия, върху клетките NCI-H2452 са тествани както аденовирус тип 5 (Ad5), така и модифициран с влакна вариант (Ad5F35). Тези аденовируси се реплицират селективно в туморните клетки, като предизвикват онколиза по начин, зависим от вирусните частици. Установено е, че както Ad5, така и Ad5F35 показват сходна ефикасност при индуциране на клетъчна смърт в клетките NCI-H2452, което подкрепя потенциала им в генната терапия за малигнен мезотелиом.

В допълнение към ролята си в онколитичната вирусотерапия, клетките NCI-H2452 са използвани за изследване на туморната ангиогенеза, ключов фактор за прогресията на мезотелиома. NCI-H2452 експресира програнулин (PGRN) и гранулиноподобни протеини, които са идентифицирани като нови ангиогенни фактори, действащи независимо от пътя на VEGF. Тази независима от VEGF ангиогенеза е от решаващо значение, тъй като предлага алтернативни терапевтични цели в случаите, когато анти-VEGF терапията като bevacizumab не успяват да подобрят резултатите за пациентите. Изследванията показват, че тези гранулини допринасят значително за образуването на нови кръвоносни съдове, което подпомага растежа на тумора и може да участва в резистентността към определени лечения.

Organism Човек

Tissue Бял дроб

Disease Плеврален бифазен мезотелиом

Synonyms NCI-H2452, H-2452, NCIH2452

Характеристики

Age Възрастни

Gender Мъжки

Ethnicity Европейски

Morphology Епителиален

Клетки NCI-H2452 | 300391

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation NCI-H2452 (каталожен номер 300391 на Cytion)

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1553

Биомолекуларни данни

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H2452 | 300391

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H2452 | 300391

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.