

Buňky NCI-H2009 | 305283

Obecné informace

Description

Buněčná linie NCI-H2009 je odvozena od lidského nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC), konkrétně adenokarcinomu. Tato buněčná linie se hojně využívá ve výzkumu rakoviny plic ke studiu molekulárních a buněčných mechanismů, které jsou základem adenokarcinomu, nejčastějšího podtypu NSCLC. Buňky NCI-H2009 jsou cenné pro zkoumání genetických mutací, signálních transdukčních drah a terapeutických odpovědí spojených s adenokarcinomem plic.

Buňky NCI-H2009 vykazují epiteliální morfologii a exprimují markery charakteristické pro plicní adenokarcinom, včetně cytokeratinů a karcinoembryonálního antigenu (CEA). Obsahují genetické změny často pozorované u NSCLC, například mutace v genu KRAS, který je klíčový pro buněčnou signalizaci, růst a přežití. Výzkumníci využívají buňky NCI-H2009 ke zkoumání klíčových signálních drah, které se podílejí na progresi rakoviny plic, jako jsou dráhy EGFR, KRAS a PI3K/Akt. Tyto buňky se také používají při vysoce výkonných testech screeningu léčiv a předklinickém testování chemoterapeutických látek, cílených terapií a imunoterapií. Kromě toho se buňky NCI-H2009 používají ke studiu mechanismů rezistence vůči lékům a k vývoji strategií k jejímu překonání. Význam buněčné linie NCI-H2009 ve výzkumu plicního adenokarcinomu podtrhuje její důležitost při prohlubování našich znalostí biologie plicního karcinomu a při vývoji nových a účinnějších léčebných postupů pro pacienty s NSCLC.

Organism

Člověk

Tissue

Plíce

Disease

Adenokarcinom

Metastatic site

Lymfatická uzlina

Synonyms

H2009, H-2009, NCIH2009

Charakteristika

Age

68 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Evropská

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherentní

Buňky NCI-H2009 | 305283

Regulační údaje

Citation	NCI-H2009 (katalogové číslo Cytion 305283)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1514

Biomolekulární data

Viruses	Transformant: Epstein-Barrové (EBV)
Mutational profile	Mutace: B2M, p.Met1Val (c.1A>G), heterozygous; Mutation: B2M, p.Gln28Ter (c.82C>T), heterozygotní; Mutace: B2M, p.Gln28Ter (c.82C>T), heterozygotní; KRAS, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygotní; Mutace: p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygotní; TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); mutace: TP53, p.Arg273Leu (c.818G>T), homozygotní

Zpracování

Culture Medium	Doplňené médium HITES Základním médiem pro tuto buněčnou linii je DF12 . Pro přípravu kompletního růstového média přidejte do základního média následující složky: <ul style="list-style-type: none">• 0,005 mg/ml inzulínu• 0,01 mg/ml transferrin• 30 nM seleničitan sodný (konečná koncentrace)• 10 nM hydrokortizon (konečná koncentrace)• 10 nM beta-estradiol (konečná koncentrace)• Extra 2 mM L-glutamin (pro konečnou koncentraci 4,5 mM)• 5 % fetální bovinní sérum (konečná koncentrace)
Supplements	Doplňte médium o 5 % FBS, 0,005 mg/ml inzulínu, 0,01 mg/ml transferinu, 30 nM seleničitanu sodného, 10 nM hydrokortizonu, 10 nM beta-estradiolu, 3 mM L-glutaminu navíc
Dissociation Reagent	Accutase

Buňky NCI-H2009 | 305283

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:3 až 1:6

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryem.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Buňky NCI-H2009 | 305283

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Žádný

Shipping Conditions Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.