

Buňky NCI-H2195 | 305259

Obecné informace

Description

Buněčná linie NCI-H2195 je odvozena od lidského malobuněčného karcinomu plic (SCLC). Konkrétně byla tato buněčná linie vytvořena z metastáz kostní dřeně dospělého pacienta s malobuněčným karcinomem plic. Buňky NCI-H2195 se vyznačují epiteliální morfologií a schopností růst adherentně v kultuře. Vykazují typické znaky SCLC, včetně přítomnosti neuroendokrinních markerů a genetických mutací běžně spojených s touto agresivní formou karcinomu plic.

Buňky NCI-H2195 jsou hojně využívány ve výzkumu rakoviny ke studiu molekulárních a buněčných mechanismů malobuněčného karcinomu plic. Patří sem i zkoumání cest, které se podílejí na růstu nádoru, metastazování a odpovědi na léčbu. Vědci využívají tuto buněčnou linii ke zkoumání účinků chemoterapeutik, cílených terapií a nových léčebných strategií na SCLC. Buněčná linie NCI-H2195 je zvláště cenná pro studium genetických a epigenetických změn, které jsou příčinou vzniku SCLC, jako jsou mutace v TP53, RB1 a MYC, které se u tohoto typu rakoviny často vyskytují.

Buněčná linie NCI-H2195 navíc slouží jako model pro preklinické studie zaměřené na identifikaci biomarkerů pro včasnou detekci, prognózu a léčebnou odpověď u malobuněčného karcinomu plic. Tím, že tato buněčná linie poskytuje spolehlivý systém in vitro, přispívá k vývoji účinnějších léčebných postupů a lepšímu pochopení tohoto onemocnění, což v konečném důsledku napomáhá rozvoji přístupů personalizované medicíny pro pacienty s SCLC.

Organism

Člověk

Tissue

Plíce

Disease

Malobuněčný karcinom

Metastatic site

Kostní dřeň

Synonyms

H2195, H-2195

Charakteristika

Age

67 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Buňky NCI-H2195 | 305259

Citation NCI-H2195 (katalogové číslo Cytion 305259)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1538

Biomolekulární data

Mutational profile Mutace: TP53, p.Val157Phe (c.469G>T)

Zpracování

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 1,6 mM L-glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS, ITS+, hydrokortizon 10 nM, β -estradiol 10 nM, L-glutamin**Dissociation Reagent** Accutase**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 odstředíte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustíte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2 až 1:3**Fluid renewal** 2krát 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 kryo.

Buňky NCI-H2195 | 305259

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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 odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
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.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

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.

**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.

Buňky NCI-H2195 | 305259

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 a molekulární analýza

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 vizuální kontrolám.