

NCI-H2009-solut | 305283

Yleisiä tietoja

Description

NCI-H2009-solulinja on peräisin ihmisen ei-pienisoluista keuhkosyövästä (NSCLC), tarkemmin sanottuna adenokarsinoomasta. Tätä solulinjaa käytetään laajasti keuhkosyövän tutkimuksessa adenokarsinooman, NSCLC:n yleisin alatyypin, taustalla olevien molekyyli- ja solumekanismien tutkimiseen. NCI-H2009-solut ovat arvokkaita keuhkoadenokarsinoomaan liittyvien geneettisten mutaatioiden, signaaliinsiirtoreittien ja terapeuttisten vasteiden tutkimisessa.

NCI-H2009-solut ovat morfologialtaan epiteelisoluja ja ilmentävät keuhkoadenokarsinoomalle tyypillisiä merkkiaineita, kuten sytokeratineja ja karsinoembryonaalista antigeeniä (CEA). Niissä esiintyy NSCLC:ssä usein havaittavia geneettisiä muutoksia, kuten mutaatioita KRAS-geenissä, joka on keskeinen solujen signalointiin, kasvuun ja selviytymiseen. Tutkijat käyttävät NCI-H2009-soluja tutkiakseen keuhkosyövän etenemiseen liittyviä keskeisiä signaalinvälitysteitä, kuten EGFR-, KRAS- ja PI3K/Akt-reittejä. Näitä soluja käytetään myös suurikapasiteettisissa lääkeaineiden seulontatesteissä ja kemoterapeuttisten aineiden, kohdennettujen hoitojen ja immunoterapioiden prekliinisissä testeissä. Lisäksi NCI-H2009-soluja käytetään lääkeresistenssin mekanismien tutkimiseen ja sen voittamiseen tarkoitettujen strategioiden kehittämiseen. NCI-H2009-solulinjan merkitys keuhkojen adenokarsinooman tutkimuksessa korostaa sen tärkeyttä keuhkosyövän biologian ymmärtämisen edistämiseksi ja uusien, tehokkaampien hoitomenetelmien kehittämisessä NSCLC-potilaille.

Organism Ihminen

Tissue Keuhkot

Disease Adenokarsinooma

Metastatic site Imusolmuke

Synonyms H2009, H-2009, NCIH2009

Ominaisuudet

Age 68 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Eurooppalainen

Morphology Epiteeli

Growth properties Tarttuva

NCI-H2009-solut | 305283

Säätelytiedot

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

Biomolekyyli tiedot

Viruses	Muuntaja: Epstein-Barr-virus (EBV)
Mutational profile	Mutaatiot: B2M, p.Met1Val (c.1A>G), heterotsygoottinen; Mutaatiot: B2M, p.Gln28Ter (c.82C>T), heterotsygoottinen; Mutaatiot: KRAS, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterotsygoottinen; Mutaatio: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutaatio: TP53, p.Arg273Leu (c.818G>T), homotsygoottinen

Käsittely

Culture Medium	HITES-kasvatusaine, täydennetty <p>Tämän solulinjan perusviljelyalusta on DF12. Täydellisen kasvualustan valmistamiseksi lisää perusviljelyalustaan seuraavat komponentit:</p> <ul style="list-style-type: none">• 0,005 mg/ml insuliinia• 0,01 mg/ml transferriniini• 30 nM natriumseleniitti (lopullinen pitoisuus)• 10 nM hydrokortisoni (lopullinen pitoisuus)• 10 nM beeta-estradioli (lopullinen pitoisuus)• Lisäksi 2 mM L-glutamiinia (lopullinen pitoisuus 4,5 mM)• 5 % sikiön naudan seerumia (lopullinen pitoisuus)
Supplements	Lisää väliaineeseen 5 % FBS, 0,005 mg/ml insuliinia, 0,01 mg/ml transferriniiniä, 30 nM natriumseleniittiä, 10 nM hydrokortisonia, 10 nM beeta-estradiolia ja 3 mM L-glutamiinia.
Dissociation Reagent	Accutase

NCI-H2009-solut | 305283

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Split ratio Suositeltava suhde on 1:3–1:6

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

NCI-H2009-solut | 305283

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

Shipping Conditions Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.