

NCI-H1048 sejtek | 305595

Általános információk

Description	r
Organism	Emberi
Tissue	Tüdő
Disease	Kissejtes karcinóma
Metastatic site	Mellhártya folyadékgyülem
Synonyms	H1048, H-1048, NCIH1048

Jellemzők

Age	53 év
Gender	Női
Ethnicity	Afroamerikai
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	NCI-H1048 (Cytion katalógusszám: 305595)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1453

Biomolekuláris adatok

MSI-status	Instabil (MSI magas)
-------------------	----------------------

NCI-H1048 sejtek | 305595

A kezelése

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion 820400a cikkszám)

Supplements A táptalajt 5% FBS-szel, 0,005 mg/ml inzulinnal, 0,01 mg/ml transferrinnel, 30nM nátrium-szelenittel, 10 nM hidrokortizonnal, 10 nM béta-ösztadiollal egészítsük ki

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen TrypLE Express-szel, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. Hagyjuk a sejteket 8-10 percig szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuspendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

NCI-H1048 sejtek | 305595

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.

Közeg

HITES táptalaj, 5% magzati szarvasmarha-szérummal kiegészítve: A sejtvonala alapközege a **DMEM:F12 médium** (katalógusszám: 820400a). A teljes növekedési táptalaj elkészítéséhez adja hozzá a következő komponenseket az alap táptalajhoz:

- 0.005 mg/ml inzulin
 - 0.01 mg/ml transferrin
 - 30 nM nátrium-szelenit (végső koncentráció)
 - 10 nM hidrokortizon (végső koncentráció)
 - 10 nM béta-ösztadiol (végső koncentráció)
 - extra 2 mM L-glutamin (a 4,5 mM végkoncentrációhoz)
 - 5% szarvasmarha magzati szérum (végső koncentráció)
- Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
 - Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhéziós sejtek esetén ossza el a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetén az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
 - A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

NCI-H1048 sejtek | 305595

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.