

NCI-H1048 ląstelės | 305595

Bendra informacija

Description	r
Organism	Žmogus
Tissue	Plaučiai
Disease	Smulkiųjų ląstelių karcinoma
Metastatic site	Pleuros išskyros
Synonyms	H1048, H-1048, NCIH1048

Charakteristikos

Age	53 metai
Gender	Moteris
Ethnicity	Afroamerikietis
Morphology	Epitelį panašus
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation	NCI-H1048 (Cytion katalogo numeris 305595)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellSaurusAccession	CVCL_1453

Biomolekuliniai duomenys

MSI-status	Nestabilus (MSI aukštas)
-------------------	--------------------------

NCI-H1048 ląstelės | 305595

Tvarkymas

Culture Medium

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)

Supplements

Papildykite terpę 5 % FBS, 0,005 mg/ml insulino, 0,01 mg/ml transferino, 30 nM natrio selenito, 10 nM hidrokortizono, 10 nM beta estradiolio

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tada visiškai užtepkite "TrypLE Express", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NCI-H1048 ląstelės | 305595

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.

Terpė

HITES terpė, papildyta 5 % galvijų vaisiaus serumo: Pagrindinė šios ląstelių linijos terpė yra **DMEM:F12 terpė** (katalogo Nr. 820400a). Norėdami pagaminti pilną augimo terpę, į pagrindinę terpę pridėkite toliau nurodytų komponentų:

- 0.005 mg/ml insulino
 - 0.01 mg/ml transferino
 - 30 nM natrio selenito (galutinė koncentracija)
 - 10 nM hidrokortizono (galutinė koncentracija)
 - 10 nM beta estradiolio (galutinė koncentracija)
 - papildomai 2 mM L-glutamino (galutinė koncentracija 4,5 mM)
 - 5 % galvijų fetalinio serumo (galutinė koncentracija)
- Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
 - Švelniai reuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
 - Laikykites nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

NCI-H1048 ląstelės | 305595

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.