

NCI-H2452 ląstelės | 300391

Bendra informacija

Description

NCI-H2452 ląstelių linija yra žmogaus piktybinės pleuros mezoteliomos ląstelių linija, gauta iš mezotelioma sergančio paciento pleuros. Ji dažnai naudojama moksliniuose tyrimuose, skirtuose mezoteliomos patofiziologijai suprasti ir naujiems gydymo metodams kurti. Kaip ir kitos mezoteliomos ląstelių linijos, NCI-H2452 yra susijusi su asbesto pluošto poveikiu, kuris yra gerai žinomas mezoteliomos rizikos veiksnys. Tyrimai su NCI-H2452 išryškino jos naudingumą tiriant ligos progresavimo mechanizmus ir atsaką į įvairius gydymo būdus, ypač genų terapiją ir virusinės onkologijos metodus.

NCI-H2452 ląstelės ekspresuoja Cocksackie ir adenoviruso receptorių (CAR) ir CD46, todėl jos yra tinkamos kandidatės adenovirusu pagrįstos genų terapijos tyrimams. Atliekant onkolitinės virusoterapijos tyrimus, su NCI-H2452 ląstelėmis buvo išbandytas 5 tipo adenovirusas (Ad5) ir jo pluoštu modifikuotas variantas (Ad5F35). Šie adenovirusai selektyviai replikuojasi naviko ląstelėse, sukeldami nuo viruso dalelių priklausomą onkolizę. Nustatyta, kad tiek Ad5, tiek Ad5F35 pasižymėjo panašiu veiksmingumu sukeldami ląstelių mirtį NCI-H2452 ląstelėse, o tai patvirtina jų potencialą taikant genų terapiją piktybinei mezoteliomai gydyti.

NCI-H2452 ląstelės buvo naudojamos ne tik onkolitinei virusoterapijai, bet ir naviko angiogenezei, kuri yra pagrindinis mezoteliomos progresavimo veiksnys, tirti. NCI-H2452 ekspresuoja progranuliną (PGRN) ir į granuliną panašius baltymus, kurie nustatyti kaip nauji angiogeniniai veiksniai, veikiantys nepriklausomai nuo VEGF kelio. Nuo VEGF nepriklausoma angiogenezė yra labai svarbi, nes ji yra alternatyvus terapinis taikynys tais atvejais, kai anti-VEGF terapija, pavyzdžiui, bevacizumabas, nepadaeda pagerinti pacientų gydymo rezultatų. Tyrimai rodo, kad šie granulinai labai prisideda prie naujų kraujagyslių formavimosi, kuris palaiko naviko augimą ir gali būti susijęs su atsparumu tam tikriems gydymo būdams.

Organism	Žmogus
Tissue	Plaučiai
Disease	Pleuros bifazinė mezotelioma
Synonyms	NCI-H2452, H-2452, NCIH2452

Charakteristikos

Age	Suaugusiųjų
Gender	Vyras
Ethnicity	Europos
Morphology	Epitelis
Growth properties	Priglundęs

NCI-H2452 ląstelės | 300391

Reguliavimo duomenys

Citation	NCI-H2452 (Cytion katalogo numeris 300391)
-----------------	--------------------------------------------

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1553
-----------------------------	-----------

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
-----------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
--------------------	----------------------------

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. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", 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 perkeltite 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-H2452 ląstelės | 300391

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°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°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.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite 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.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

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

NCI-H2452 ląstelės | 300391

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 skystąjį 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.