

NCI-H1048 šūnas | 305595

Vispārīga informācija

Description	r
Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Disease	Mazšūnu karcinoma
Metastatic site	Pleiras izsvīdums
Synonyms	H1048, H-1048, NCIH1048

Raksturojums

Age	53 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Afroamerikānis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	NCI-H1048 (Cytion kataloga numurs 305595)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1453

Biomolekulārie dati

MSI-status	Nestabils (MSI augsts)
-------------------	------------------------

NCI-H1048 šūnas | 305595

Darbs ar

Culture Medium

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements

Papildināt barotni ar 5% FBS, 0,005 mg/ml insulīna, 0,01 mg/ml transferīna, 30 nM nātrija selenīta, 10 nM hidroksizona, 10 nM beta estradiola

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar TrypLE Express, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.

NCI-H1048 šūnas | 305595

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka flakons pēc piegādes paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.

Barotne

HITES barotne, kas papildināta ar 5 % liellopu fetālā seruma: Šai šūnu līnijai bāzes barotne ir **DMEM:F12 barotne** (kataloga Nr. 820400a). Lai pagatavotu pilnvērtīgu barotni, bāzes barotnei pievieno šādus komponentus:

- 0.005 mg/ml insulīna
 - 0.01 mg/ml transferīna
 - 30 nM Nātrija selenīts (galīgā koncentrācija)
 - 10 nM hidroksikortizons (galīgā koncentrācija)
 - 10 nM beta-estradiols (galīgā koncentrācija)
 - papildus 2 mM L-glutamīns (gala koncentrācija 4,5 mM)
 - 5 % fetālā liellopu seruma (galīgā koncentrācija)
- Maisījumu centrifugē 3 minūtes ar 300 x g, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
 - Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
 - Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

NCI-H1048 šūnas | 305595

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.