

NCI-H2452 šūnas | 300391

Vispārīga informācija

Description

NCI-H2452 šūnu līnija ir cilvēka ļaundabīgās pleiras mezoteliomas šūnu līnija, kas iegūta no mezoteliomas pacienta pleiras. To bieži izmanto pētījumos, kuru mērķis ir izprast mezoteliomas patofizioloģiju un izstrādāt jaunas terapeitiskās pieejas. Tāpat kā citas mezoteliomas šūnu līnijas, arī NCI-H2452 ir saistīta ar azbesta šķiedru iedarbību, kas ir vispāratzīts mezoteliomas riska faktors. Pētījumi ar NCI-H2452 ir uzsvēruši tās lietderību, pētot slimības progresēšanas mehānismus un reakciju uz dažādām terapijām, jo īpaši gēnu terapijām un vīrusu onkolīzes metodēm.

NCI-H2452 šūnas ekspresē Coxsackie un adenovīrusa receptoru (CAR) un CD46, tāpēc tās ir piemērotas kandidātes uz adenovīrusu balstītas gēnu terapijas pētījumiem. Onkolītiskās viroterapijas pētījumos ar NCI-H2452 šūnām ir pārbaudīts gan 5. tipa adenovīruss (Ad5), gan šķiedru modificēts variants (Ad5F35). Šie adenovīrusi selektīvi replicējas audzēja šūnās, izraisot onkolīzi vīrusa daļiņu atkarīgā veidā. Tika konstatēts, ka gan Ad5, gan Ad5F35 uzrāda līdzīgu efektivitāti, izraisot šūnu bojāeju NCI-H2452 šūnās, kas apstiprina to potenciālu ļaundabīgās mezoteliomas gēnu terapijā.

Papildus NCI-H2452 šūnu nozīmei onkolītiskajā viroterapijā tās tika izmantotas audzēja angiogēzes, kas ir galvenais mezoteliomas progresēšanas faktors, izpētei. NCI-H2452 ekspresē progranulīnu (PGRN) un granulīnam līdzīgus proteīnus, kas ir identificēti kā jauni angiogēnie faktori, kuri darbojas neatkarīgi no VEGF ceļa. Šī no VEGF neatkarīgā angiogēze ir ļoti svarīga, jo tā piedāvā alternatīvus terapeitiskos mērķus gadījumos, kad anti-VEGF terapija, piemēram, bevacizumabs, nespēj uzlabot pacientu ārstēšanas rezultātus. Pētījumi liecina, ka šie granulīni būtiski veicina jaunu asinsvadu veidošanos, kas veicina audzēja augšanu un var būt saistīti ar rezistenci pret noteiktiem ārstēšanas veidiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Pleiras bifāziskā mezotelioma

Synonyms

NCI-H2452, H-2452, NCIH2452

Raksturojums

Age

Pieaugušo

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Eiropas

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

NCI-H2452 šūnas | 300391

Normatīvie dati

Citation	NCI-H2452 (Cytion kataloga numurs 300391)
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1553

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt 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 Accutase, 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 atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

NCI-H2452 šūnas | 300391

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons 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.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. 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.
8. 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

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

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.

NCI-H2452 šūnas | 300391

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.