

NCI-H2009-celler | 305283

Generell informasjon

Description

NCI-H2009-cellelinjen er avledet fra et humant ikke-småcellet lungekarsinom (NSCLC), nærmere bestemt et adenokarsinom. Denne cellelinjen brukes i stor utstrekning i lungekreftforskning for å studere de molekylære og cellulære mekanismene som ligger til grunn for adenokarsinom, den vanligste undertypen av NSCLC. NCI-H2009-celler er verdifulle for å undersøke genetiske mutasjoner, signaltransduksjonsveier og behandlingsresponser i forbindelse med lungeadenokarsinom.

NCI-H2009-celler har en epitelial morfologi og uttrykker markører som er karakteristiske for lungeadenokarsinom, blant annet cytokeratiner og karsinoembryonalt antigen (CEA). De har genetiske endringer som ofte observeres i NSCLC, for eksempel mutasjoner i KRAS-genet, som er avgjørende for cellesignalering, vekst og overlevelse. Forskere bruker NCI-H2009-celler til å utforske viktige signalveier som er involvert i utviklingen av lungekreft, for eksempel EGFR-, KRAS- og PI3K/Akt-signalveiene. Disse cellene brukes også i høykapasitetsanalyser for screening av legemidler og preklinisk testing av kjemoterapeutiske midler, målrettede terapier og immunterapier. I tillegg brukes NCI-H2009-celler til å studere mekanismer for legemiddelresistens og til å utvikle strategier for å overvinne den. NCI-H2009-cellelinjens relevans for forskning på lungeadenokarsinom understreker hvor viktig den er for å øke vår forståelse av lungekreftbiologien og for å utvikle nye og mer effektive behandlingsmetoder for pasienter med NSCLC.

Organism

Menneskelig

Tissue

Lunge

Disease

Adenokarsinom

Metastatic site

Lymfeknute

Synonyms

H2009, H-2009, NCIH2009

Kjennetegn

Age

68 år

Gender

Kvinne

Ethnicity

Europeisk

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

NCI-H2009-celler | 305283

Regulatoriske data

Citation	NCI-H2009 (Cytion-katalognummer 305283)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1514

Biomolekylære data

Viruses	Transformant: Epstein-Barr-virus (EBV)
Mutational profile	Mutasjon: B2M, p.Met1Val (c.1A>G), heterozygot; Mutasjon: B2M, p.Gln28Ter (c.82C>T), heterozygot; Mutasjon: KRAS, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygot; Mutasjon: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutasjon: TP53, p.Arg273Leu (c.818G>T), homozygot

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)
Supplements	Tilsett 5 % FBS, 0,005 mg/ml insulin, 0,01 mg/ml transferrin, 30 nM natriumselenitt, 10 nM hydrokortison, 10 nM beta-østradiol, ekstra 3 mM L-glutamin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:3 til 1:6 anbefales
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

NCI-H2009-celler | 305283

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium kan du bruke komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

None

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H2009-celler | 305283

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.