

Komórki NCI-H2009 | 305283

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa NCI-H2009 wywodzi się z ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC), w szczególności gruczolakoraka. Ta linia komórkowa jest szeroko stosowana w badaniach nad rakiem płuc do badania mechanizmów molekularnych i komórkowych leżących u podstaw gruczolakoraka, najczęstszego podtypu NSCLC. Komórki NCI-H2009 są cenne do badania mutacji genetycznych, szlaków transdukcji sygnału i odpowiedzi terapeutycznych związanych z gruczolakorakiem płuc.

Komórki NCI-H2009 wykazują morfologię nabłonkową i wyrażają markery charakterystyczne dla gruczolakoraka płuc, w tym cytokeratyny i antygen rakowo-śródowoty (CEA). Zawierają one zmiany genetyczne często obserwowane w NSCLC, takie jak mutacje w genie KRAS, który ma kluczowe znaczenie dla sygnalizacji komórkowej, wzrostu i przeżycia. Naukowcy wykorzystują komórki NCI-H2009 do badania kluczowych szlaków sygnałowych zaangażowanych w progresję raka płuc, takich jak szlaki EGFR, KRAS i PI3K/Akt. Komórki te są również wykorzystywane w wysokoprzepustowych testach przesiewowych leków i przedklinicznych testach środków chemioterapeutycznych, terapii celowanych i immunoterapii. Dodatkowo, komórki NCI-H2009 są wykorzystywane do badania mechanizmów oporności na leki i opracowywania strategii jej przewycięzania. Znaczenie linii komórkowej NCI-H2009 w badaniach nad gruczolakorakiem płuc podkreśla jej znaczenie w pogłębianiu naszej wiedzy na temat biologii raka płuc oraz w opracowywaniu nowych i skuteczniejszych metod leczenia pacjentów z NSCLC.

Organism Człowiek

Tissue Płuco

Disease Gruczolakorak

Metastatic site Węzeł chłonny

Synonyms H2009, H-2009, NCIH2009

Charakterystyka

Age 68 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Europejski

Morphology Nabłonek

Growth properties Adherent

Komórki NCI-H2009 | 305283

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Viruses	Transformant: Wirus Epsteina-Barr (EBV)
Mutational profile	Mutacja: B2M, p.Met1Val (c.1A>G), heterozygotyczna; Mutacja: B2M, p.Gln28Ter (c.82C>T), heterozygotyczny; Mutacja: KRAS, p.Gly12Ala (c.35G>C), heterozygotyczny; Mutacja: TERT, c.1-124C>T (c.228C>T) (C228T); Mutacja: TP53, p.Arg273Leu (c.818G>T), homozygotyczna

Obsługa

Culture Medium	Pożywka HITES uzupełniona Podstawowym podłożem dla tej linii komórkowej jest DF12 . Aby uzyskać kompletne podłoże wzrostowe, do podłoża podstawowego należy dodać następujące składniki: <ul style="list-style-type: none">• 0,005 mg/ml insuliny• 0,01 mg/ml transferryny• 30 nM selenitu sodu (stężenie końcowe)• 10 nM hydrokortyzon (stężenie końcowe)• 10 nM beta-estradol (stężenie końcowe)• Dodatkowe 2 mM L-glutaminy (dla końcowego stężenia 4,5 mM)• 5% surowicy płodowej bydlęcej (stężenie końcowe)
Supplements	Uzupełnić podłoże o 5% FBS, 0,005 mg/ml insuliny, 0,01 mg/ml transferyny, 30 nm seleninu sodu, 10 nM hydrokortyzonu, 10 nM beta-estradolu, dodatkowe 3 mM L-glutaminy
Dissociation Reagent	Accutase

Komórki NCI-H2009 | 305283

Subculturing Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki NCI-H2009 | 305283

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Shipping Conditions Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.