

Bunky NCI-H2195 | 305259**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NCI-H2195 je odvodená od ľudského malobunkového karcinómu pľúc (SCLC). Konkrétne bola táto bunková línia vytvorená z metastáz kostnej drene dospelého pacienta s malobunkovým karcinómom pľúc. Bunky NCI-H2195 sa vyznačujú epitelovou morfológiou a schopnosťou adherentného rastu v kultúre. Vykazujú typické znaky SCLC vrátane prítomnosti neuroendokrinných markerov a genetických mutácií, ktoré sa bežne spájajú s touto agresívnou formou rakoviny pľúc.

Bunky NCI-H2195 sa vo veľkej miere používajú vo výskume rakoviny na štúdium molekulárnych a bunkových mechanizmov malobunkového karcinómu pľúc. Patrí sem aj skúmanie ciest, ktoré sa podieľajú na raste nádoru, metastázovaní a odpovedi na liečbu. Výskumníci využívajú túto bunkovú líniu na skúmanie účinkov chemoterapeutických látok, cielených terapií a nových liečebných stratégií na SCLC. Bunková línia NCI-H2195 je obzvlášť cenná na štúdium genetických a epigenetických zmien, ktoré sú príčinou SCLC, ako sú mutácie TP53, RB1 a MYC, ktoré sa často vyskytujú pri tomto type rakoviny.

Bunková línia NCI-H2195 okrem toho slúži ako model pre predklinické štúdie zamerané na identifikáciu biomarkerov na včasnú detekciu, prognózu a terapeutickú odpoveď pri malobunkovom karcinóme pľúc. Tým, že táto bunková línia poskytuje spoľahlivý systém in vitro, prispieva k vývoju účinnejších liečebných postupov a lepšiemu pochopeniu ochorenia, čo v konečnom dôsledku napomáha rozvoju prístupov personalizovanej medicíny pre pacientov s SCLC.

Organism

Ľudské

Tissue

Pľúca

Disease

Malobunkový karcinóm

Metastatic site

Kostná dreň

Synonyms

H2195, H-2195

Charakteristika**Age**

67 rokov

Gender

Muži

Ethnicity

Kaukazský

Growth properties

Adherent

Regulačné údaje

Bunky NCI-H2195 | 305259**Citation** NCI-H2195 (katalógové číslo Cytion 305259)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1538**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: TP53, p.Val157Phe (c.469G>T)**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 1,6 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion 820400a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS, ITS+, hydrokortizón 10 nM, β -estradiol 10 nM, L-glutamín**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Split ratio** Odporúča sa pomer 1:2 až 1:3**Fluid renewal** 2 krát týždenne**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky NCI-H2195 | 305259**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCI-H2195 | 305259

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.