

Celice NCI-H2452 | 300391

Splošne informacije

Description

Celična linija NCI-H2452 je celična linija človeškega malignega plevralnega mezotelioma, ki je bila pridobljena iz plevre bolnika z mezoteliomom. Pogosto se uporablja v raziskavah, ki so usmerjene v razumevanje patofiziologije mezotelioma in razvoj novih terapevtskih pristopov. Tako kot druge mezoteliomske celične linije je tudi NCI-H2452 povezana z izpostavljenostjo azbestnim vlaknom, kar je dobro znan dejavnik tveganja za mezoteliom. Študije z NCI-H2452 so pokazale njeno uporabnost pri raziskovanju mehanizmov napredovanja bolezni in odziva na različne terapije, zlasti genske terapije in pristope virusne onkolize.

Celice NCI-H2452 izražajo Coxsackie in adenovirusni receptor (CAR) ter CD46, zato so primerne kandidatke za študije genskega zdravljenja na osnovi adenovirusov. V raziskavah onkolitične viroterapije sta bila na celicah NCI-H2452 testirana adenovirus tipa 5 (Ad5) in različica z modificiranimi vlakni (Ad5F35). Ti adenovirusi se selektivno razmnožujejo v tumorskih celicah in povzročajo onkoloizo na način, ki je odvisen od virusnih delcev. Ugotovljeno je bilo, da sta tako Ad5 kot Ad5F35 pokazala podobno učinkovitost pri povzročanju celične smrti v celicah NCI-H2452, kar potrjuje njun potencial za gensko zdravljenje malignega mezotelioma.

Poleg vloge v onkolitični viroterapiji so bile celice NCI-H2452 uporabljene za preučevanje tumorske angiogeneze, ključnega dejavnika pri napredovanju mezotelioma. NCI-H2452 izraža progranulin (PGRN) in granulinu podobne beljakovine, ki so bile prepoznane kot novi angiogeni dejavniki, ki delujejo neodvisno od poti VEGF. Ta od VEGF neodvisna angiogeneza je ključnega pomena, saj ponuja alternativne terapevtske cilje v primerih, ko terapije proti VEGF, kot je bevacizumab, ne izboljšajo rezultatov zdravljenja bolnikov. Raziskave kažejo, da ti granulini pomembno prispevajo k nastajanju novih krvnih žil, kar podpira rast tumorja in je lahko vpleteno v odpornost na nekatera zdravljenja.

Organism	Človek
Tissue	Pljuča
Disease	Plevralni dvofazni mezoteliom
Synonyms	NCI-H2452, H-2452, NCIH2452

Značilnosti

Age	Odrasli
Gender	Moški
Ethnicity	Evropski
Morphology	Epitelijski
Growth properties	Pripadajoče

Celice NCI-H2452 | 300391**Regulativni podatki****Citation** NCI-H2452 (katalogška številka Cytion 300391)**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1553**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice NCI-H2452 | 300391

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCI-H2452 | 300391

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.