

Клетки NCI-H82 | 300442

Обща информация

Description Клетъчната линия NCI-H82 е получена от A.F. Gazdar и сътрудници през 1978 г. от плевралната течност на пациент с дребноклетъчен рак на белия дроб. Морфологията на първоначалния тумор не е характерна за SCLC. Линията е биохимичен и морфологичен вариант на SCLC, който експресиращ неврон-специфична енолаза и мозъчния изоензим на креатинкиназата. При него не се откриват нива на L-DOPA декарбоксилаза или бомбезин. Клетките произвеждат необичайно голяма мРНК p53 (3,7 kb). ДНК последователностите на с-тус се амплифицират около 25 пъти, а РНК на с-тус се увеличава 24 пъти в сравнение с нормалните клетки. Съобщава се, че клетките експресират функционални ANP рецептори, но третирането с ANP не променя модела им на растеж. Клетките се оцветяват положително за неврофиламенти и виментин. Има експресия на mRNA на v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras и c-raf 1.

Organism Човек

Tissue Бял дроб

Disease Дребноклетъчен карцином на белия дроб

Metastatic site Плеврален излив

Synonyms NCI-H-82, H82, H-82, NCI H82, NCIH82, H82sclc

Характеристики

Age 41 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Morphology Подобни на епител

Growth properties Агрегати в суспензия. Клетките растат в много големи агрегати, които са единствената жизнеспособна клетъчна популация в културата.

Регулаторни данни

Citation NCI-H82 (каталожен номер 300442 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Клетки NCI-H82 | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Биомолекуларни данни

Receptors expressed Рецептор за инсулиноподобен растежен фактор II (IGF II), предсърден натриуретичен пептид (ANP)

Protein expression P53 положителен

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, фенотипна честота Продукт = 0,0082

Tumorigenic Да, образува трансплантируеми тумори с нетипична хистология на SCLC в голи мишки

Karyotype Това е почти триплоидна човешка клетъчна линия. Модалният брой хромозоми е 58, като се срещат в 44%, а полиплоидността е 3%. Всяка клетка има две копия на нормална X-хромозома. Y хромозомата не е открита в препаратите с Q ленти.

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Subculturing Поддържайте културите, като периодично добавяте или подменяте средата. Започнете културите с плътност 5×10^5 клетки/ml и поддържайте концентрацията на клетките в диапазона от 3×10^5 до 1×10^6 клетки/ml за оптимален растеж.

Split ratio Препоръчва се съотношение от 1:2 до 1:5

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H82 | 300442

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H82 | 300442

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Профил на STR

CSF1PO: 11
D13S317: 8
D16S539: 12
D5S818: 12
D7S820: 10,13
TH01: 9.9.3
TPOX: 11
vWA: 14
D3S1358: 17
D21S11: 28,3
D18S51: 14,18
Penta E: 11,12
Penta D: 10,12
D8S1179: 13
FGA: 24, 25