

Клетки NCI-H69 | 300185

Обща информация

Description	Тази клетъчна линия е анеуплоидна, образува колонии в мек агар и запазва морфологията и ултраструктурата на дребноклетъчния карцином, както и характеристиките на APUD клетките. Клетките растат в агрегати, поради което броят на клетките не е точен. Линията може да бъде адаптирана за отглеждане в колби с шейкър или колби с въртящ се механизъм. Тези клетки не са резистентни към адриамицин.
Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Дребноклетъчен карцином на белия дроб
Metastatic site	Плеврален излив
Synonyms	NCI-H-69, NCI H69, H69, H-69, NCIH69, NCI-HUT-69, H69/P, NCI-H69C, H69C, H69c

Характеристики

Age	55 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Growth properties	Плаващи агрегати

Регулаторни данни

Citation	NCI-H69 (H69) (каталожен номер 300185 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1579

Биомолекулярни данни

Клетки NCI-H69 | 300185

Receptors expressed	Рецептор за инсулиноподобен растежен фактор II (IGF II)
Protein expression	P53 отрицателен, цитокератини положителни
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 2, PGM3, 1, ES-D, 2, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, продукт за честота на фенотипа: 0.00006
Tumorigenic	Образува тумори с типична хистология на дребноклетъчен карцином
Karyotype	Анеуплоиден, с делеция на 3p. Диапазон = 40 до 73
Работа с	
Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Doubling time	69 часа
Subculturing	Оставете агрегатите да се утаят на дъното на колбата, отстранете и изхвърлете супернатантата. Добавете свежа среда, разпръснете клетките чрез леко пипетиране и разпределете в нови колби. Субкултивирайте на всеки 6 до 8 дни.
Seeding density	1 x 10 ⁵ клетки/ml
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяването оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване за поне 24 часа.
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-H69 | 300185

**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 антимикробен 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 $300 \times g$ 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°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**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-H69 | 300185

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °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 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

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

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

HLA алели

A*: '02:01:01, '23:01:01
B*: '01:01:01, '01.02.1900 03:01
C*: '07:01:01, '14:02:01
DRB1*: '04:04:01, '04:05:01
DQA1*: '03:01:01, '03:03:01
DQB1*: '03:02:01
DPB1*: '01:01:01G, '03:01:01G
E: '01:01:01