

Buňky NCI-H82 | 300442

Obecné informace

Description	Buněčnou linii NCI-H82 odvodili A. F. Gazdar a spolupracovníci v roce 1978 z pleurální tekutiny pacienta s malobuněčným karcinomem plic. Morfologie původního nádoru nebyla charakteristická pro SCLC. Tato linie je biochemickou a morfologickou variantou SCLC, která exprimuje neuron specifickou enolázu a mozkový izoenzym kreatinkinázy. Nemá detekovatelné hladiny L-DOPA dekarboxylázy ani bombesinu. Buňky produkují abnormálně velkou mRNA p53 (3,7 kb). Sekvence DNA c-myc jsou amplifikovány asi 25krát a v porovnání s normálními buňkami dochází k 24násobnému zvýšení c-myc RNA. Buňky údajně exprimují funkční receptory ANP, ale léčba ANP nemění jejich růstový vzorec. Buňky se pozitivně barví na neurofilamenta a vimentin. Jsou zde exprimovány mRNA v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras a c-raf 1.
Organism	Člověk
Tissue	Plíce
Disease	Malobuněčný karcinom plic
Metastatic site	Pleurální výpotek
Synonyms	NCI-H-82, H82, H-82, NCI H82, NCIH82, H82sclc

Charakteristika

Age	41 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Agregáty v suspenzi. Buňky rostou ve velmi velkých agregátech, které jsou jedinou životaschopnou populací buněk v kultuře.

Regulační údaje

Citation	NCI-H82 (katalogové číslo Cytion 300442)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Buňky NCI-H82 | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Biomolekulární data

Receptors expressed

Receptor pro inzulínu podobný růstový faktor II (IGF II), atriální natriuretický peptid (ANP)

Protein expression

P53 pozitivní

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, součin četnosti fenotypu = 0,0082

Tumorigenic

Ano, vytváří transplantovatelné nádory s netypickou histologií SCLC u nahých myší

Karyotype

Jedná se o téměř triploidní lidskou buněčnou linii. Modální počet chromozomů je 58, vyskytuje se ve 44 % a polyploidie ve 3 %. Každá buňka měla dvě kopie normálního chromozomu x. Chromozom Y nebyl v preparátech s pásy Q zjištěn.

Zpracování

Culture MediumRPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements**

Doplňte médium o 10% FBS

SubculturingKultury udržujte pravidelným přidáváním nebo výměnou média. Zahajte kultury s hustotou 5×10^5 buněk/ml a pro optimální růst udržujte koncentraci buněk v rozmezí 3×10^5 až 1×10^6 buněk/ml.**Split ratio**

Doporučuje se poměr 1:2 až 1:5

Fluid renewal

2 až 3krát týdně

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky NCI-H82 | 300442**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCI-H82 | 300442

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil 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