

Buňky NCI-H209 | 300183

Obecné informace

Description Buněčná linie NCI-H209 byla odvozena A. F. Gazdarem a jeho spolupracovníky v roce 1979 z kostní dřevě pacienta s malobuněčným karcinomem plic. Vzorek kostní dřevě byl odebrán před léčbou. Tato linie je klasickou buněčnou linií SCLC, která exprimuje zvýšené hladiny čtyř biochemických markerů (neuron specifická enoláza, mozkový izoenzym kreatinkinázy, L-DOPA dekarboxyláza a imunoreaktivita podobná bombesinu. Sekvence DNA C-myc nejsou amplifikovány. Nebyly zjištěny žádné hrubé strukturální abnormality DNA. Jedná se o buněčnou linii, která roste jako velké agregáty v suspenzi. Pouze agregáty jsou životaschopné, ale nelze změřit žádné významné procento životaschopnosti. Médium obvykle obsahuje velké množství buněčných zbytků. Buňky exprimují aberantní formu RB1, která není fosforylovaná, zřejmě v důsledku jediné bodové mutace v kodonu 706 (Cys-> Phe).

Organism Člověk

Tissue Plíce

Disease Malobuněčný karcinom

Metastatic site Kostní dřevě

Synonyms H209, H-209, NCIH209

Charakteristika

Age 55 let

Gender Muži

Ethnicity Kavkazský

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Zavěšení

Regulační údaje

Citation NCI-H209 (katalogové číslo Cytion 300183)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Buňky NCI-H209 | 300183

CellosaurusAccession CVCL_1525

Biomolekulární data

Protein expression

P53 negativní

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, součin četnosti fenotypů = 0,0624

Tumorigenic

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

Products

Linie produkuje normální množství mRNA p53 ve srovnání s normálními plícemi.

Zpracování

Culture Medium

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

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS

Subculturing

Odstraňte staré médium z adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio

Doporučuje se poměr 1:2 až 1:3

Seeding density

1 x 10⁵ buněk/ml

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-H209 | 300183**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, 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-H209 | 300183**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

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11
D13S317: 11
D16S539: 9,12
D5S818: 12
D7S820: 9
TH01: 7,9
TPOX: 8
vWA: 18,19
D3S1358: 18
D21S11: 32.2
D18S51: 13
Penta E: 11,12
Penta D: 11,12
D8S1179: 12,13
FGA: 20,24

Alely HLA

A*: '02:01:01, '34:02:01
B*: '14:01:01, '40:01:02
C*: '03:04:01, '08:02:01
DRB1*: '04:05:01, '15:01:01G
DQA1*: '01:02:01, '03:03:01
DQB1*: '03:02:01, '06:02:01
DPB1*: '03:01:01G, '04:01:01G
E: '01:01:01, '01:03