

NCI-H209-celler | 300183

Generel information

Description NCI-H209-cellelinjen blev afledt af A.F. Gazdar og medarbejdere i 1979 fra knoglemarven hos en patient med småcellet lungekræft. Knoglemarvsprøven blev taget før behandlingen. Linjen er en klassisk SCLC-cellelinje, som udtrykker forhøjede niveauer af fire biokemiske markører (neuronspecifik enolase, hjerneisoenzym af kreatinkinase, L-DOPA-decarboxylase og bombesinlignende immunreaktivitet). C-myc DNA-sekvenser er ikke forstærket. Der blev ikke fundet nogen grove strukturelle DNA-abnormiteter. Dette er en cellelinje, der vokser som store aggregater i suspension. Kun aggregaterne er levedygtige, men der kan ikke måles nogen meningsfuld levedygtighedsprocent. Mediet vil normalt indeholde store mængder celleaffald. Cellerne udtrykker en afvigende form af RB1, som ikke er fosforyleret, tilsyneladende på grund af en enkelt punktmutation ved codon 706 (Cys-> Phe).

Organism Menneske

Tissue Lunge

Disease Småcellet karcinom

Metastatic site Knoglemarv

Synonyms H209, H-209, NCIH209

Karakteristika

Age 55 år

Gender Mand

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Ophængning

Regulatoriske data

Citation NCI-H209 (Cytion katalognummer 300183)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCI-H209-celler | 300183

CellosaurusAccession CVCL_1525

Biomolekylære data

Protein expression

P53 negativ

Isoenzymes

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

Tumorigenic

Yeese, danner transplanterbare tumorer med typisk SCLC-histologi i nøgenmus

Products

Linjen producerer normale mængder af p53-mRNA i forhold til normale lunger.

Håndtering

Culture MediumRPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements**

Suppler mediet med 10% FBS

Subculturing

Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspend cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio

Et forhold på 1:2 til 1:3 anbefales

Seeding density1 x 10⁵ celler/ml**Fluid renewal**

2 til 3 gange om ugen

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryoinduceret stress.

NCI-H209-celler | 300183

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NCI-H209-celler | 300183

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

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

HLA-alleler

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