

Κύτταρα NCI-H82 | 300442

Γενικές πληροφορίες

Description Η κυτταρική σειρά NCI-H82 προήλθε από τον A.F. Gazdar και τους συνεργάτες του το 1978 από το πλευριτικό υγρό ενός ασθενούς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Η μορφολογία του αρχικού όγκου δεν ήταν χαρακτηριστική του SCLC. Η γραμμή είναι μια βιοχημική και μορφολογική παραλλαγή του SCLC που εκφράζει τη νευροειδική ενολάση και το εγκεφαλικό ισοένζυμο της κινάσης της κρεατίνης. Δεν έχει ανιχνεύσιμα επίπεδα αποκαρβοξυλάσης L-DOPA ή βομβεσίνης. Τα κύτταρα παράγουν ένα mRNA p53 αφύσικου μεγέθους (3,7 kb). Οι αλληλουχίες DNA του c-myc ενισχύονται περίπου 25 φορές και υπάρχει 24πλάσια αύξηση του RNA του c-myc σε σχέση με τα φυσιολογικά κύτταρα. Αναφέρεται ότι τα κύτταρα εκφράζουν λειτουργικούς υποδοχείς ANP, αλλά η θεραπεία με ANP δεν μεταβάλλει το πρότυπο ανάπτυξής τους. Τα κύτταρα χρωματίζονται θετικά για νευροϊνίδια και βιμεντίνη. Υπάρχει έκφραση των mRNAs v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras και c-raf 1.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

Disease Μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα

Metastatic site Υπεζωκοτική συλλογή

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

Χαρακτηριστικά

Age 41 χρόνια

Gender Άντρας

Ethnicity Καυκάσιος

Morphology Επιθηλιοειδής

Growth properties Αδρανής σε αιώρηση. Τα κύτταρα αναπτύσσονται σε πολύ μεγάλα συσσωματώματα, τα οποία είναι ο μόνος βιώσιμος κυτταρικός πληθυσμός στην καλλιέργεια.

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation NCI-H82 (αριθμός καταλόγου Cytion 300442)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Κύτταρα NCI-H82 | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed

Υποδοχέας του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα II (IGF II), κολπικό νατριουρητικό πεπτίδιο (ANP)

Protein expression

P53 θετικό

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, Phenotype Frequency Product = 0.0082

Tumorigenic

Ναι, σχηματίζει μεταμοσχεύσιμους όγκους με μη τυπική ιστολογία SCLC σε γυμνά ποντίκια

Karyotype

Πρόκειται για μια σχεδόν τριπλοειδή ανθρώπινη κυτταρική σειρά. Ο μέσος αριθμός χρωμοσωμάτων είναι 58, που εμφανίζεται σε ποσοστό 44% με πολυπλοειδία σε ποσοστό 3%. Κάθε κύτταρο είχε δύο αντίγραφα ενός φυσιολογικού χρωμοσώματος x. Το χρωμόσωμα Y δεν ανιχνεύθηκε σε παρασκευάσματα με ζώνες Q.

Χειρισμός

Culture MediumRPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements**

Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

SubculturingΔιατηρήστε τις καλλιέργειες προσθέτοντας ή αντικαθιστώντας περιοδικά το μέσο. Ξεκινήστε τις καλλιέργειες με πυκνότητα 5×10^5 κύτταρα/ml και διατηρήστε τη συγκέντρωση των κυττάρων εντός του εύρους 3×10^5 έως 1×10^6 κύτταρα/ml για βέλτιστη ανάπτυξη.**Split ratio**

Συνιστάται αναλογία 1:2 έως 1:5

Fluid renewal

2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυσταλλικό αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυσταλλικό με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρυσταλλοποιημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα NCI-H82 | 300442**Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Προφίλ 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