

NCI-H82 rakud | 300442

Üldine teave

Description NCI-H82 rakuliini tuletasid A.F. Gazdar ja kaaslased 1978. aastal ühe kopsuvähki põdeva patsiendi pleura vedelikust. Algse kasvaja morfoloogia ei olnud SCLC-le iseloomulik. See liin on SCLC biokeemiline ja morfoloogiline variant, mis ekspresseerib neuronispetsiifilist enolaasi ja aju kreatiinkinaasi isoensüümi. Selles ei ole L-DOPA dekarboksülaasi ega bombesiini tuvastatavat taset. Rakud toodavad ebanormaalse suurusega p53 mRNA-d (3,7 kb). C-myc DNA järjestused on umbes 25 korda võimendatud ja c-myc RNA on 24 korda suurenenud võrreldes normaalsete rakkudega. On teatatud, et rakud ekspresseerivad funktsionaalseid ANP retseptoreid, kuid ravi ANP-ga ei muuda nende kasvustrit. Rakud värvuvad positiivselt neurofilamentide ja vimentiini suhtes. Ekspresseeruvad v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras ja c-raf 1 mRNA-d.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Kopsu väikerakk-kartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

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

Omadused

Age 41 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Suspendeeritud agregaadid. Rakud kasvavad väga suurtes agregaatides, mis on ainus elujõuline rakupopulatsioon kultuuris.

Regulatiivsed andmed

Citation NCI-H82 (Cytioni katalooginumber 300442)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCI-H82 rakud | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Insuliinilaadse kasvufaktori II retseptor (IGF II), atriaalne natriureetiline peptiid (ANP)
Protein expression	P53 positiivne
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, fenotüübi sageduse toode = 0,0082
Tumorigenic	Jah, moodustab nude hiirtel mittetüüpilise SCLC histoloogiaga transplanteeritavaid kasvujaid
Karyotype	See on peaaegu triploidne inimese rakuliin. Modaalne kromosoomide arv on 58, mis esineb 44% ulatuses, kusjuures polüploidus on 3%. Igas rakus oli kaks koopiat normaalset x-kromosoomi. Y-kromosoomi ei tuvastatud Q-riba preparaates.

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Subculturing	Säilitage kultuure, lisades või asendades perioodiliselt kasvukeskkonda. Alustage kultuuride kasvatamist tihedusega 5×10^5 rakku/ml ja hoidke rakkude kontsentratsioon vahemikus 3×10^5 kuni 1×10^6 rakku/ml optimaalse kasvu tagamiseks.
Split ratio	Soovitav on suhe 1:2 kuni 1:5
Fluid renewal	2 kuni 3 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NCI-H82 rakud | 300442

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H82 rakud | 300442

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

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