

Cellules NCI-H209 | 300183

Informations générales

Description La lignée cellulaire NCI-H209 a été dérivée par A.F. Gazdar et ses collaborateurs en 1979 à partir de la moelle osseuse d'un patient atteint d'un cancer du poumon à petites cellules. L'échantillon de moelle osseuse a été prélevé avant le traitement. Il s'agit d'une lignée cellulaire SCLC classique qui exprime des niveaux élevés de quatre marqueurs biochimiques (énolase spécifique des neurones, isoenzyme cérébrale de la créatine kinase, L-DOPA décarboxylase et immunoréactivité de type bombésine). Les séquences d'ADN C-myc ne sont pas amplifiées. Aucune anomalie structurelle flagrante de l'ADN n'a été détectée. Il s'agit d'une lignée cellulaire qui se développe sous forme de grands agrégats en suspension. Seuls les agrégats sont viables, mais aucun pourcentage de viabilité significatif ne peut être mesuré. Le milieu contient normalement de grandes quantités de débris cellulaires. Les cellules expriment une forme aberrante de RB1 qui n'est pas phosphorylée, apparemment en raison d'une mutation ponctuelle au codon 706 (Cys-> Phe).

Organism Humain

Tissue Poumon

Disease Carcinome à petites cellules

Metastatic site Moelle osseuse

Synonyms H209, H-209, NCIH209

Caractéristiques

Age 55 ans

Gender Homme

Ethnicity Caucasien

Morphology De type épithélial

Growth properties Suspension

Données réglementaires

Citation NCI-H209 (numéro de catalogue Cytion 300183)

Biosafety level 1

Cellules NCI-H209 | 300183

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1525

Données biomoléculaires

Protein expression P53 négatif

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, Produit de fréquence du phénotype = 0,0624

Tumorigenic Oui, forme des tumeurs transplantables avec une histologie typique de SCLC chez des souris nude

Products La lignée produit des quantités normales d'ARNm p53 par rapport au poumon normal.

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio Un rapport de 1:2 à 1:3 est recommandé

Seeding density 1×10^5 cellules/mL

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules NCI-H209 | 300183

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules NCI-H209 | 300183

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

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

Allèles 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