

NCI-H82 sejtek | 300442

Általános információk

Description Az NCI-H82 sejtvonalat A.F. Gazdar és munkatársai 1978-ban egy kissejtes tüdőrákban szenvedő beteg mellhártyájának folyadékából nyerték. Az eredeti tumor morfológiája nem volt jellemző az SCLC-re. A vonal az SCLC biokémiai és morfológiai változata, amely neuronspecifikus enolázt és a kreatin-kináz agyi izoenzimjét expresszálja. Nem mutatható ki az L-DOPA-dekarboxiláz és a bombesin szintje. A sejtek abnormális méretű p53 mRNS-t termelnek (3,7 kb). A c-myc DNS-szekvenciák körülbelül 25-szörösére amplifikálódnak, és a c-myc RNS 24-szeresére nő a normális sejtekhez képest. A jelentések szerint a sejtek funkcionális ANP-receptorokat expresszálnak, de az ANP-vel történő kezelés nem változtatja meg a növekedési mintázatukat. A sejtek pozitívan festődnek neurofilamentumokra és vimentinre. A v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras és c-raf 1 mRNS-ek expressziója kimutatható.

Organism Emberi

Tissue Tüdő

Disease Tüdő kissejtes karcinóma

Metastatic site Mellhártya folyadékgyülem

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

Jellemzők

Age 41 év

Gender Férfi

Ethnicity Kaukázusi

Morphology Epithelszerű

Growth properties Aggregátumok szuszpenzióban. A sejtek nagyon nagy aggregátumokban nőnek, amelyek az egyetlen életképes sejtpopulációt alkotják a tenyészetben.

Szabályozási adatok

Citation NCI-H82 (Cytion katalógusszám: 300442)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCI-H82 sejtek | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Inzulinszerű növekedési faktor II receptor (IGF II), pitvari natriuretikus peptid (ANP)
Protein expression	P53 pozitív
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotípus gyakorisági termék = 0,0082
Tumorigenic	Igen, nem tipikus SCLC szövettanú, transzplantálható tumorokat képez meztelen egerekben
Karyotype	Ez egy közel triploid emberi sejtvonallal. A modális kromoszómaszám 58, amely 44%-ban fordul elő, a poliploidia aránya 3%. Minden sejtben két példányban volt egy normális x kromoszóma. Az Y kromoszómát nem mutatták ki a Q sávok preparátumokban.

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Subculturing	A tenyészeteket a táptalaj rendszeres hozzáadásával vagy cseréjével tartsa fenn. A tenyészeteket 5×10^5 sejt/ml sűrűséggel indítsa el, és az optimális növekedés érdekében tartsa a sejtkoncentrációt 3×10^5 és 1×10^6 sejt/ml közötti tartományban.
Split ratio	1:2 és 1:5 közötti arányt javasolunk
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

NCI-H82 sejtek | 300442

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCI-H82 sejtek | 300442

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

STR profil

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