

## NCI-H209 sejtek | 300183

## Általános információk

**Description** Az NCI-H209 sejtvonalat A.F. Gazdar és munkatársai 1979-ben egy kissejtes tüdőrákban szenvedő beteg csontvelőjéből nyerték. A csontvelőmintát a terápia előtt vették. A vonal egy klasszikus SCLC sejt vonal, amely négy biokémiai marker (neuronspecifikus enoláz, a kreatin-kináz agyi izoenzimje, L-DOPA dekarboxiláz és bombesinszerű immunreaktivitás) emelkedett szintjét fejezi ki. A C-myc DNS-szekvenciák nem amplifikálódnak. Durva strukturális DNS-rendellenességeket nem észleltek. Ez egy olyan sejt vonal, amely szuszpenzióban nagy aggregátumokként növekszik. Csak az aggregátumok életképesek, de értelmezhető életképességi százalék nem mérhető. A tápfolyadék általában nagy mennyiségű sejtterméket tartalmaz. A sejtek az RB1 egy aberráns formáját expresszálják, amely nem foszforilálódik, nyilvánvalóan a 706-os kodonnál bekövetkezett egyetlen pontmutáció miatt (Cys-> Phe).

**Organism** Emberi

**Tissue** Tüdő

**Disease** Kissejtes karcinóma

**Metastatic site** Csontvelő

**Synonyms** H209, H-209, NCIH209

## Jellemzők

**Age** 55 év

**Gender** Férfi

**Ethnicity** Kaukázusi

**Morphology** Epithelszerű

**Growth properties** Felfüggesztés

## Szabályozási adatok

**Citation** NCI-H209 (Cytion katalógusszám: 300183)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## NCI-H209 sejtek | 300183

CellosaurusAccession CVCL\_1525

## Biomolekuláris adatok

**Protein expression** P53 negatív**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, Fenotípus gyakorisági termék = 0,0624**Tumorigenic** Igen, tipikus SCLC szövettanú, transzplantálható tumorokat képez meztelen egerekben**Products** A vonal a normál tüdőhöz képest normális mennyiségű p53 mRNS-t termel.

## A kezelése

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Split ratio** 1:2 és 1:3 közötti arány ajánlott**Seeding density**  $1 \times 10^5$  sejt/ml**Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás 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-H209 sejtek | 300183

**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  $-150\text{ °C}$  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  $37\text{ °C}$ -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 kriofülkét 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 sejt pelletet 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%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ °C}$ -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  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## NCI-H209 sejtek | 300183

**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**

**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 allélok**

**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