

NCI-H209 ląstelės | 300183

Bendra informacija

Description NCI-H209 ląstelių liniją 1979 m. A. F. Gazdaras su bendradarbiais išvedė iš paciento, sergančio smulkialąstelinio plaučių vėžiu, kaulų čiulpu. Kaulų čiulpų mėginys buvo paimtas prieš gydymą. Ši linija yra klasikinė SCLC ląstelių linija, kurioje yra padidėjęs keturių biocheminių žymenų (neuronams specifinės enolazės, smegenų kreatinkinazės izofermento, L-DOPA dekarboksilazės ir j bombesiną panašaus imunoreaktyvumo) kiekis. C-myc DNR sekos nėra padaugintos. Jokių stambių struktūrinių DNR pakitimų neaptikta. Tai ląstelių linija, kuri auga dideliais agregatais suspensijoje. Tik agregatai yra gyvybingi, tačiau negalima nustatyti reikšmingo gyvybingumo procento. Terpėje paprastai būna daug ląstelių liekanų. Ląstelės išreiškia pakitusią RB1 formą, kuri nėra fosforilinta, matyt, dėl vienos taškinės mutacijos 706 kodone (Cys-> Phe).

Organism Žmogus

Tissue Plaučiai

Disease Smulkiųjų ląstelių karcinoma

Metastatic site Kaulų čiulpai

Synonyms H209, H-209, NCIH209

Charakteristikos

Age 55 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukaziečių

Morphology | epitelį panašus

Growth properties Pakaba

Reguliavimo duomenys

Citation NCI-H209 (Cytion katalogo numeris 300183)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCI-H209 ląstelės | 300183

CellosaurusAccession CVCL_1525

Biomolekuliniai duomenys

Protein expression

P53 neigiamas

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, fenotipo dažnio produktas = 0,0624

Tumorigenic

Taip, suformuoja transplantuojamus navikus su tipiška SCLC histologija nude pelių organizme

Products

Šioje linijoje yra normalus p53 mRNA kiekis, palyginti su normaliais plaučiais.

Tvarkymas

Culture MediumRPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements**

Papildykite terpę 10 % FBS

Subculturing

Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio

Rekomenduojamas santykis nuo 1:2 iki 1:3

Seeding density1 x 10⁵ ląstelių/ml**Fluid renewal**

2-3 kartus per savaitę

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NCI-H209 ląstelės | 300183

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NCI-H209 ląstelės | 300183

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

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 aleliai

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