

NCI-H82 šūnas | 300442

Vispārīga informācija

Description	NCI-H82 šūnu līniju 1978. gadā ieguva A. F. Gazdars (A. F. Gazdar) un viņa līdzstrādnieki no pleiras šķidrums, kas iegūts no pacienta ar plaušu sīkšūnu vēzi. Sākotnējā audzēja morfoloģija nebija raksturīga SCLC. Šī līnija ir SCLC bioķīmiskais un morfoloģiskais variants, kas ekspresē neironiem specifisko enolāzi un smadzeņu kreatīnkināzes izoenzīmu. Tajā nav nosakāms L-DOPA dekarboksilāzes vai bombezīna līmenis. Šūnās veidojas nenormāla izmēra p53 mRNS (3,7 kb). C-myc DNS sekvences ir pastiprinātas aptuveni 25 reizes, un c-myc RNS ir 24 reizes lielāka salīdzinājumā ar normālām šūnām. Tiek ziņots, ka šūnas ekspresē funkcionālus ANP receptorus, bet ārstēšana ar ANP nemaina to augšanas modeli. Šūnās pozitīvi krāsojas neurofilamenti un vimentīns. Ir vērojama v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras un c-raf 1 mRNS ekspresija.
Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Disease	Plaušu sīkšūnu karcinoma
Metastatic site	Pleiras izsvīdums
Synonyms	NCI-H-82, H82, H-82, NCI H82, NCIH82, H82sclc

Raksturojums

Age	41 gads
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Growth properties	Agregāti suspensijā. Šūnas aug ļoti lielos agregātos, kas ir vienīgā dzīvotspējīgā šūnu populācija kultūrā.

Normatīvie dati

Citation	NCI-H82 (Cytion kataloga numurs 300442)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

NCI-H82 šūnas | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Insulīnam līdzīgā augšanas faktora II receptoru (IGF II), priekškambaru natriuretisko peptīdu (ANP)

Protein expression P53 pozitīvs

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotipu biežuma produkts = 0,0082

Tumorigenic Jā, veido transplantējamus audzējus ar netipisku SCLC histoloģiju nude pelēm

Karyotype Šī ir gandrīz triploīda cilvēka šūnu līnija. Modālais hromosomu skaits ir 58 hromosomas, kas sastopamas 44 % gadījumā, bet poliploīdijas līmenis ir 3 %. Katrai šūnai bija divas normālas X hromosomas kopijas. Y hromosomu Q joslu preparātos nekonstatēja.

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Subculturing Kultūras uzturiet, periodiski pievienojot vai nomainot barotni. Kultūras uzsāciet ar blīvumu 5×10^5 šūnas/ml un uzturiet šūnu koncentrāciju diapazonā no 3×10^5 līdz 1×10^6 šūnas/ml, lai nodrošinātu optimālu augšanu.

Split ratio Ieteicamais proporcijas diapazons ir no 1:2 līdz 1:5

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

NCI-H82 šūnas | 300442

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCI-H82 šūnas | 300442

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

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