

NCI-H209-celler | 300183

Generell informasjon

Description	NCI-H209-cellelinjen ble avledet av A.F. Gazdar og medarbeidere i 1979 fra benmargen til en pasient med småcellet lungekreft. Benmargsprøven ble tatt før behandlingen. Linjen er en klassisk SCLC-cellelinje som uttrykker forhøyede nivåer av fire biokjemiske markører (nevronspesifikk enolase, hjerneisoenzym av kreatinkinase, L-DOPA-dekarboksylase og bombesinlignende immunreaktivitet). C-myc DNA-sekvenser er ikke amplifisert. Det ble ikke påvist noen grove strukturelle DNA-abnormaliteter. Dette er en cellelinje som vokser som store aggregater i suspensjon. Bare aggregatene er levedyktige, men det er ikke mulig å måle noen meningsfull levedyktighetsprosent. Mediet vil normalt inneholde store mengder cellerester. Cellene uttrykker en avvikende form av RB1 som ikke er fosforylert, tilsynelatende på grunn av en enkelt punktmutasjon ved kodon 706 (Cys-> Phe).
Organism	Menneskelig
Tissue	Lunge
Disease	Småcellet karsinom
Metastatic site	Benmarg
Synonyms	H209, H-209, NCIH209

Kjennetegn

Age	55 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	NCI-H209 (Cytion-katalognummer 300183)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

NCI-H209-celler | 300183

CellosaurusAccession CVCL_1525

Biomolekylære data

Protein expression

P53 negativ

Isoenzymes

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

Tumorigenic

Ja, danner transplanterbare svulster med typisk SCLC-histologi i nakne mus

Products

Linjen produserer normale mengder p53-mRNA i forhold til normal lunge.

Håndtering

Culture MediumRPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements**

Suppler mediet med 10 % FBS

SubculturingOppretthold kulturene ved å tilsette eller skifte ut mediet med jevne mellomrom. Start kulturene med en tetthet på 5×10^5 celler/ml og hold cellekonsentrasjonen innenfor området 3×10^5 til 1×10^6 celler/ml for optimal vekst.**Split ratio**

Et forhold på 1:2 til 1:3 anbefales

Seeding density 1×10^5 celler/ml**Fluid renewal**

2 til 3 ganger per uke

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

NCI-H209-celler | 300183

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H209-celler | 300183

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

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-alleler

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