

Komórki NCI-H82 | 300442

Informacje ogólne

Description Linia komórkowa NCI-H82 została uzyskana przez A.F. Gazdara i współpracowników w 1978 roku z płynu opłucnowego pacjenta z drobnokomórkowym rakiem płuca. Morfologia pierwotnego guza nie była charakterystyczna dla SCLC. Linia ta jest biochemicznym i morfologicznym wariantem SCLC, który wykazuje ekspresję enolazy swoistej dla neuronów i izoenzymu mózgowej kinazy kreatynowej. Nie ma wykrywalnych poziomów dekarboksylazy L-DOPA ani bombesiny. Komórki wytwarzają nieprawidłowej wielkości mRNA p53 (3,7 kb). Sekwencje DNA c-myc są amplifikowane około 25-krotnie, a RNA c-myc wzrasta 24-krotnie w stosunku do normalnych komórek. Komórki wykazują ekspresję funkcjonalnych receptorów ANP, ale leczenie ANP nie zmienia ich wzorca wzrostu. Komórki wybarwiają się pozytywnie na neurofilamenty i wimentynę. Występuje ekspresja mRNA v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras i c-raf 1.

Organism Człowiek

Tissue Płuco

Disease Rak drobnokomórkowy płuca

Metastatic site Wąsłek opłucnowy

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

Charakterystyka

Age 41 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Agregaty w zawieszynie. Komórki rosną w bardzo dużych agregatach, które są jedyną żywotną populacją komórek w hodowli.

Dane regulacyjne

Citation NCI-H82 (numer katalogowy Cytion 300442)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Komórki NCI-H82 | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Dane biomolekularne

Receptors expressed Receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu II (IGF II), przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP)

Protein expression P53 dodatni

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, iloczyn częstości fenotypów = 0,0082

Tumorigenic Tak, tworzy przeszczepialne guzy o nietypowej histologii SCLC u nagich myszy

Karyotype Jest to prawie triploidalna ludzka linia komórkowa. Modalna liczba chromosomów wynosi 58, występując w 44% z poliploidią na poziomie 3%. Każda komórka posiadała dwie kopie normalnego chromosomu x. Chromosom Y nie został wykryty w preparatach z prążkami Q.

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Subculturing Kultury należy utrzymywać poprzez okresowe dodawanie lub wymianę pożywki. Kultury należy rozpocząć od gęstości 5×10^5 komórek/ml i utrzymywać stężenie komórek w zakresie od 3×10^5 do 1×10^6 komórek/ml, aby zapewnić optymalny wzrost.

Split ratio Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:5

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki NCI-H82 | 300442**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCI-H82 | 300442

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

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