

Células NCI-H209 | 300183**Informações gerais**

Description A linha celular NCI-H209 foi obtida por A.F. Gazdar e colaboradores em 1979 a partir da medula óssea de um doente com cancro do pulmão de pequenas células. A amostra de medula óssea foi recolhida antes da terapia. Trata-se de uma linha celular clássica de SCLC que exprime níveis elevados de quatro marcadores bioquímicos (enolase específica dos neurónios, isoenzima cerebral da creatina quinase, L-DOPA descarboxilase e imunorreactividade do tipo bombesina). As sequências de ADN C-myc não foram amplificadas. Não foram detectadas anomalias estruturais grosseiras do ADN. Esta é uma linha celular que cresce como grandes agregados em suspensão. Apenas os agregados são viáveis, mas não é possível medir uma percentagem significativa de viabilidade. O meio conterá normalmente grandes quantidades de detritos celulares. As células expressam uma forma aberrante de RB1 que não é fosforilada, aparentemente devido a uma mutação pontual única no códon 706 (Cys-> Phe).

Organism Humano

Tissue Pulmão

Disease Carcinoma de pequenas células

Metastatic site Medula óssea

Synonyms H209, H-209, NCIH209

Caraterísticas

Age 55 anos

Gender Masculino

Ethnicity Caucasiano

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Suspensão

Dados regulamentares

Citation NCI-H209 (número de catálogo Cytion 300183)

Biosafety level 1

Células NCI-H209 | 300183**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1525**Dados biomoleculares****Protein expression** P53 negativo**Isoenzymes** G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, Produto de frequência fenotípica = 0,0624**Tumorigenic** Sim, forma tumores transplantáveis com histologia típica de CPPC em ratinhos nus**Products** A linha produz quantidades normais de ARNm do p53 em relação ao pulmão normal.**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Split ratio** Recomenda-se um rácio de 1:2 a 1:3**Seeding density** 1×10^5 células/mL**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células NCI-H209 | 300183

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células NCI-H209 | 300183**Shipping
Conditions**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Perfil STR

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

Alelos HLA

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