

Bunky NCI-H82 | 300442**Všeobecné informácie**

Description Bunkovú líniu NCI-H82 odvodili A. F. Gazdar a jeho spolupracovníci v roku 1978 z pleurálnej tekutiny pacienta s malobunkovým karcinómom pľúc. Morfológia pôvodného nádoru nebola charakteristická pre SCLC. Táto línia je biochemickým a morfológickým variantom SCLC, ktorý exprimuje neurón špecifickú enolázu a mozgový izoenzým kreatínkinázy. Nemá zistiteľné hladiny L-DOPA dekarboxylázy ani bombesínu. Bunky produkujú abnormálnu veľkosť mRNA p53 (3,7 kb). Sekvencie DNA c-myc sú amplifikované približne 25-násobne a v porovnaní s normálnymi bunkami je tu 24-násobný nárast RNA c-myc. Bunky údajne exprimujú funkčné receptory ANP, ale liečba ANP nemení ich rastový model. Bunky sa pozitívne farbja na neurofilamenty a vimentín. Expresia mRNA v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras a c-raf 1.

Organism Ľudské

Tissue Pľúca

Disease Malobunkový karcinóm pľúc

Metastatic site Pleurálny výpotok

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

Charakteristika

Age 41 rokov

Gender Muži

Ethnicity Kaukazský

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Agregáty v suspenzii. Bunky rastú vo veľmi veľkých agregátoch, ktoré sú jedinou životaschopnou populáciou buniek v kultúre.

Regulačné údaje

Citation NCI-H82 (katalógové číslo Cytion 300442)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Bunky NCI-H82 | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Biomolekulárne údaje**Receptors expressed**

Receptor pre inzulínu podobný rastový faktor II (IGF II), atriálny natriuretický peptid (ANP)

Protein expression

P53 pozitívny

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, produkt frekvencie fenotypu = 0,0082

Tumorigenic

Áno, vytvára transplantovateľné nádory s netypickou histológiou SCLC u nahých myší

Karyotype

Ide o takmer triploidnú ľudskú bunkovú líniu. Modálny počet chromozómov je 58, vyskytujú sa v 44 % s polyploidnosťou 3 %. Každá bunka mala dve kópie normálneho chromozómu x. Chromozóm Y sa v preparátoch s pásmami Q nezistil.

Spracovanie**Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements**

Doplňte médium o 10 % FBS

SubculturingKultúry udržiavajte pravidelným pridávaním alebo výmenou média. Kultúry začnite s hustotou 5×10^5 buniek/ml a pre optimálny rast udržiavajte koncentráciu buniek v rozmedzí 3×10^5 až 1×10^6 buniek/ml.**Split ratio**

Odporúča sa pomer 1:2 až 1:5

Fluid renewal

2 až 3-krát týždenne

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky NCI-H82 | 300442

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCI-H82 | 300442

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile

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