

## Bunky NCI-H209 | 300183

## Všeobecné informácie

**Description** Bunkovú líniu NCI-H209 odvodil A. F. Gazdar a jeho spolupracovníci v roku 1979 z kostnej drene pacienta s malobunkovým karcinómom pľúc. Vzorka kostnej drene bola odobratá pred liečbou. Táto línia je klasickou bunkovou líniou SCLC, ktorá exprimuje zvýšené hladiny štyroch biochemických markerov (neurón špecifická enoláza, mozgový izoenzým kreatínkinázy, L-DOPA dekarboxyláza a imunoreaktivita podobná bombesínu. Sekvencie C-myc DNA nie sú amplifikované. Neboli zistené žiadne hrubé štrukturálne abnormality DNA. Ide o bunkovú líniu, ktorá rastie ako veľké agregáty v suspenzii. Len agregáty sú životaschopné, ale nie je možné zmerať významné percento životaschopnosti. Médium zvyčajne obsahuje veľké množstvo bunkových zvyškov. Bunky exprimujú aberantnú formu RB1, ktorá nie je fosforylovaná, zrejme v dôsledku jedinej bodovej mutácie v kodóne 706 (Cys-> Phe).

**Organism** Ľudské

**Tissue** Pľúca

**Disease** Malobunkový karcinóm

**Metastatic site** Kostná dreň

**Synonyms** H209, H-209, NCIH209

## Charakteristika

**Age** 55 rokov

**Gender** Muži

**Ethnicity** Kaukazský

**Morphology** Epitelu podobné

**Growth properties** Pozastavenie

## Regulačné údaje

**Citation** NCI-H209 (katalógové číslo Cytion 300183)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**Bunky NCI-H209 | 300183**

CellosaurusAccession CVCL\_1525

**Biomolekulárne údaje****Protein expression**

P53 negatívny

**Isoenzymes**

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

**Tumorigenic**

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

**Products**

Línia produkuje normálne množstvo mRNA p53 v porovnaní s normálnymi pľúcami.

**Spracovanie****Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (číslo výroby Cytion 820700a)**Supplements**

Doplňte médium o 10 % FBS

**Subculturing**

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

**Split ratio**

Odporúča sa pomer 1:2 až 1:3

**Seeding density**1 x 10<sup>5</sup> buniek/ml**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-H209 | 300183

### 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 %  $\text{CO}_2$ , 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-H209 | 300183

### 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 mykoplaziem založených na luminiscencii.

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

### STR profile

**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

### Alely 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