

Клітини NCI-H82 | 300442

Загальна інформація

Description Клітинна лінія NCI-H82 була отримана А.Ф. Газдаром і співробітниками в 1978 році з плевральної рідини пацієнта з недрібноклітинним раком легені. Морфологія вихідної пухлини не була характерною для ДМРЛ. Лінія є біохімічним і морфологічним варіантом СКЛК, який експресує нейрон-специфічну енолазу і мозковий ізофермент креатинкінази. Вона не має виявлених рівнів L-DOPA декарбоксилази або бомбезину. Клітини продукують мРНК p53 аномального розміру (3,7 кб). Послідовності ДНК с-тус ампліфіковані приблизно у 25 разів, а РНК с-тус збільшена у 24 рази порівняно з нормальними клітинами. Повідомляється, що клітини експресують функціональні рецептори ANP, але обробка ANP не змінює характер їхнього росту. Клітини позитивно забарвлюються на нейрофіламенти та віментин. Спостерігається експресія мРНК v-fes, v-fms, Ha-ras, Ki-ras, N-ras і c-raf 1.

Organism Людина

Tissue Легені

Disease Дрібноклітинна карцинома легень

Metastatic site Плевральний випіт

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

Характеристики

Age 41 рік

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Агрегати в суспензії. Клітини ростуть у дуже великих агрегатах, які є єдиною життєздатною популяцією клітин у культурі.

Нормативні дані

Citation NCI-H82 (номер за каталогом Cytion 300442)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Клітини NCI-H82 | 300442

CellosaurusAccession CVCL_1591

Біомолекулярні дані

Receptors expressed Рецептор інсуліноподібного фактора росту II (IGF II), передсердний натрійуретичний пептид (ANP)

Protein expression P53 позитивний

Isoenzymes G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, Phenotype Frequency Product = 0.0082

Tumorigenic Так, утворює трансплантовані пухлини з нетиповою гістологією СКЛК у голих мишей

Karyotype Це майже триплоїдна лінія клітин людини. Кількість модальних хромосом становить 58, що зустрічається у 44%, а поліплоїдія - у 3%. Кожна клітина мала дві копії нормальної X-хромосоми. Y-хромосома не була виявлена в препаратах з Q-смугою.

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Subculturing Підтримуйте культури, періодично додаючи або замінюючи середовище. Починайте культури з щільністю 5×10^5 клітин/мл і підтримуйте концентрацію клітин в діапазоні від 3×10^5 до 1×10^6 клітин/мл для оптимального росту.

Split ratio Рекомендується дотримуватися співвідношення від 1:2 до 1:5

Fluid renewal 2-3 рази на тиждень

Freeze medium Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NCI-H82 | 300442**Shipping
Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

**Storage
Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA**Sterility**

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Профіль 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