

Клітини NCI-H209 | 300183

Загальна інформація

Description Клітинна лінія NCI-H209 була отримана А.Ф. Газдаром і співробітниками в 1979 році з кісткового мозку пацієнта з недрібноклітинним раком легенів. Зразок кісткового мозку був взятий до початку терапії. Лінія є класичною клітинною лінією СКЛК, яка експресує підвищені рівні чотирьох біохімічних маркерів (нейрон-специфічної енолази, мозкового ізоферменту креатинкінази, L-ДОФА-декарбоксилази та бомбезіноподібної імунореактивності). С-тус послідовності ДНК не ампліфікуються. Грубих структурних аномалій ДНК не виявлено. Це клітинна лінія, яка росте у вигляді великих агрегатів у суспензії. Тільки агрегати є життєздатними, але не можна виміряти значущий відсоток життєздатності. Зазвичай середовище містить велику кількість клітинного сміття. Клітини експресують аберантну форму RB1, яка не фосфорилується, очевидно, через одноточкову мутацію в кодоні 706 (Cys-> Phe).

Organism Людина

Tissue Легені

Disease Дрібноклітинна карцинома

Metastatic site Кістковий мозок

Synonyms H209, H-209, NCIH209

Характеристики

Age 55 років

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Підвіска

Нормативні дані

Citation NCI-H209 (номер за каталогом Cytion 300183)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Клітини NCI-H209 | 300183

CellosaurusAccession CVCL_1525

Біомолекулярні дані

Protein expression

P53 негативний

Isoenzymes

G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1, ES-D, 1, Me-2, 0, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, Phenotype Frequency Product = 0.0624

Tumorigenic

Так, утворює трансплантовані пухлини з типовою гістологією СКЛК у голих мишей

Products

Лінія виробляє нормальну кількість мРНК p53 відносно нормальної легені.

Обробка

Culture MediumRPMI 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

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини акутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Split ratio

Рекомендується співвідношення від 1:2 до 1:3

Seeding density1 x 10⁵ клітин/мл**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 криоіндукованого стресу.

Клітини NCI-H209 | 300183

**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, зануривши 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-H209 | 300183

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

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

HLA алелі

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