

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

Description A linhagem celular NCI-H209 foi isolada por A.F. Gazdar e colaboradores em 1979 a partir da medula óssea de um paciente com câncer de pulmão de pequenas células. A amostra de medula óssea foi coletada antes do início do tratamento. A linha é uma linha celular clássica de SCLC que expressa níveis elevados de quatro marcadores bioquímicos (enolase específica de neurônios, isoenzima cerebral da creatina quinase, L-DOPA descarboxilase e imunorreatividade semelhante à bombesina). As sequências de DNA do C-myc não são amplificadas. Não foram detectadas anomalias estruturais macroscópicas no DNA. Trata-se de uma linhagem celular que cresce na forma de grandes agregados em suspensão. Apenas os agregados são viáveis, mas não é possível medir uma porcentagem significativa de viabilidade. O meio normalmente contém grandes quantidades de detritos celulares. As células expressam uma forma aberrante de RB1 que não é fosforilada, aparentemente devido a uma mutação pontual no códon 706 (Cys->Phe).

Organism Humano

Tissue Pulmão

Disease Carcinoma de pequenas células

Metastatic site Medula óssea

Synonyms H209, H-209, NCIH209

Características

Age 55 anos

Gender Masculino

Ethnicity caucasiano

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Suspensão

Dados regulatórios

Citation NCI-H209 (número de catálogo da 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 da frequência fenotípica = 0,0624

Tumorigenic Sim, forma tumores transplantáveis com histologia típica do SCLC em camundongos nude

Products Essa linhagem produz quantidades normais de mRNA de p53 em comparação com o pulmão normal.

Manuseio

Culture Medium RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)

Supplements Adicione 10% de FBS ao meio

Subculturing Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1 x 10⁵ células/mL

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células NCI-H209 | 300183

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células NCI-H209 | 300183

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.