

Клетки NCI-H446 | 305049

Обща информация

Description Тази клетъчна линия е създадена през 1982 г. от D. Carney, A.F. Gazdar и сътрудници от плевралната течност на пациент с дребноклетъчен рак на белия дроб. Първоначалната морфология на тумора не е била характерна за дребноклетъчния рак на белия дроб. Клетъчната линия е вариант на дребноклетъчния рак на белия дроб по биохимия и морфология и експресира неврон-специфична енолаза, както и мозъчния изоензим на креатинкиназата. В клетъчната линия не са открити L-DOPA декарбоксилаза, бомбезин, вазопресин, окситоцин или пептид, освобождаващ гастрин. Тази клетъчна линия показва 20 пъти по-висока степен на амплификация на с-тус ДНК и 15 пъти по-висока степен на с-тус РНК. Клетъчната линия първоначално е размножена в безсерумна среда RPMI 1640, допълнена с 10 nM хидрокортизон, 5 микрограма/ml инсулин, 10 микрограма/ml трансферин, 10 nM 17-бета-естрадиол и 30 nM натриев селенит. Клетките могат да образуват трансплантируеми тумори с нетипичен дребноклетъчен рак на белия дроб.

Organism Човек

Tissue Бял дроб

Disease Дребноклетъчен карцином на белия дроб

Metastatic site Плеврална ефузия

Synonyms NCI-H446, H-446, NCI-446, NCIH446

Характеристики

Age 61 години

Gender Мъжки

Ethnicity Европейски

Morphology Подобни на епител

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation NCI-H446 (каталожен номер 305049 на Cytion)

Biosafety level 1

Клетки NCI-H446 | 305049

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1562

Биомолекулярни данни

Tumorigenic Да, при голи мишки (клетките образуват тумори за трансплантация с нетипична хистология на SCLC).

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS, добавете 2,5 g/L глюкоза, 10 mM HEPES и 1,0 mM натриев пируват**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Съберете суспендираните клетки в 15-милилитрова епруветка и внимателно промийте прилепналите клетки с PBS без калций и магнезий (използвайте 3-5 ml за колби T25 и 5-10 ml за колби T75). Нанесете Accutase (1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75), като се уверите, че покрива изцяло клетъчния слой. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 10 минути. След инкубацията комбинирайте и центрофугирайте суспензията и адхезивните клетки. След центрофугирането внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета и прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, съдържащи свежа среда.**Split ratio** 1:3 до 1:4**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H446 | 305049

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H446 | 305049**Shipping
Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

**Storage
Conditions**

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA**Sterility**

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

**Профил на
STR**

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 13
D13S317: 8
D16S539: 12
D5S818: 11
D7S820: 10,11
TH01: 8,9,3
TPOX: 9,11
vWA: 18,19
D3S1358: 17
D21S11: 28
D18S51: 12,13
Penta E: 9,1
Penta D: 12,13
D8S1179: 13:15
FGA: 22
D1S1656: 14,16,3
D6S1043: 11
D2S1338: 18,2
D12S391: 17,18
D19S433: 13,14