

## Buňky NCI-H146 | 300182

## Obecné informace

<b>Description</b>	Buněčnou linii NCI-H146 odvodili A. F. Gazdar a spolupracovníci v roce 1979 z pleurální tekutiny pacienta s malobuněčným karcinomem plic. Vzorek kostní dřevě byl odebrán před léčbou.
<b>Organism</b>	Člověk
<b>Tissue</b>	Plíce
<b>Disease</b>	Malobuněčný karcinom
<b>Metastatic site</b>	Kostní dřevě
<b>Synonyms</b>	H146, H-146, NCIH146

## Charakteristika

<b>Age</b>	59 let
<b>Gender</b>	Muži
<b>Ethnicity</b>	Kavkazský
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné
<b>Growth properties</b>	Agregáty v suspenzi

## Regulační údaje

<b>Citation</b>	NCI-H146 (katalogové číslo Cytion 300182)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1473

## Biomolekulární data

**Buňky NCI-H146 | 300182**

<b>Receptors expressed</b>	Receptor pro inzulinu podobný růstový faktor II (IGF II)
<b>Protein expression</b>	Buňky se pozitivně barví na vimentin a keratin, ale jsou negativní na neurofilamentový tripletový protein.
<b>Antigen expression</b>	Linie exprimuje zvýšené hladiny čtyř biochemických markerů: neuron specifické enolázy, mozkového izoenzymu kreatinkinázy, L-DOPA dekarboxylázy a imunoreaktivity podobné bombesinu
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, součin četnosti fenotypů = 0,0009
<b>Tumorigenic</b>	Vytváří transplantovatelné nádory u nahých myší, které se histologicky podobají nádorovým buňkám z původního biotického vzorku
<b>Products</b>	Buňky produkují poměrně velké množství mRNA c-myc, ale sekvence DNA c-myc se neamplifikují. Buňky neexprimují vazopresin, oxytocin ani gastrin uvolňující peptid.
<b>Ploidy status</b>	Aneuploidní
<b>MSI-status</b>	Stabilní (MSS)
<b>Karyotype</b>	Jedná se o téměř triploidní lidskou buněčnou linii. Modální počet chromozomů je 68, ale často se vyskytovaly i buňky s 66, 70 a 71 chromozomy. Chromozomy x byly párové a v preparátech obarvených QM nebyl zjištěn žádný chromozom Y.
<b>Zpracování</b>	
<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS
<b>Subculturing</b>	Buňky by měly být subkultivovány přenesením části suspenze do nových baněk pro kultivaci buněk předem naplněných čerstvým médiem. Případně lze shluky odebrat odstředěním a resuspendovat v čerstvém médiu.
<b>Split ratio</b>	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:6
<b>Seeding density</b>	1 až 2 x 10 <sup>5</sup> buněk/ml
<b>Fluid renewal</b>	2 až 3krát týdně

**Buňky NCI-H146 | 300182****Post-Thaw Recovery**

Po rozmrazení nechte buňky alespoň 24 až 48 hodin zotavovat z procesu zmrazování.

**Freeze medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation Atmosphere**

37 °C, 5 %<sub>CO2</sub>, zvlhčená atmosféra.

**Flask Coating**

Žádný

## Buňky NCI-H146 | 300182

**Freezing Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

**Kontrola kvality / Genetický profil / HLA****Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,x

**Alely HLA**

**A\*:** '01:01:01, '03:01:01

**B\*:** '14:02:01, '44:03:01

**C\*:** '08:02:01, '16:01:01

**DRB1\*:** '08:01:01, '15:01:01G

**DQA1\*:** '01:02:01, '04:01:01

**DQB1\*:** '04:02:01, '06:02:01

**DPB1\*:** '02:01:02, '05:01:01

**E:** '01:01:01