Product sheet

NCI-H446-celler | 305049

Generel information

Description	Denne cellelinje blev etableret i 1982 af D. Carney, A.F. Gazdar og medarbejdere fra pleuravæske fra en patient med småcellet lungekræft. Den oprindelige tumormorfologi var ikke karakteristisk for småcellet lungekræft. Cellelinjen er en variant af småcellet lungekræft i biokemi og morfologi og udtrykker neuronspecifik enolase samt hjerne-isoenzymet af kreatinkinase. Der er ikke fundet L-DOPA-decarboxylase, bombesin, vasopressin, oxytocin eller gastrin-frigørende peptid i cellelinjen. Denne cellelinje udviser en 20 gange højere grad af c-myc DNA-amplifikation og en 15 gange højere grad af c-myc RNA. Cellelinjen blev oprindeligt opformeret i serumfrit RPMI 1640-medium suppleret med 10 nM hydrokortison, 5 mikrogram/mL insulin, 10 mikrogram/mL transferrin, 10 nM 17-beta-østradiol og 30 nM natriumselenit. Transplanterbare tumorer med ikke-typisk småcellet lungecancerhistologi kan dannes af cellerne.
Organism	Menneske
Tissue	Lunge
Disease	Småcellet lungekarcinom
Metastatic site	Pleural effusion
Synonyms	NCI-H446, H-446, NCI-446, NCIH446

Karakteristika

Age	61 år
Gender	Mand
Ethnicity	Europæisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	NCI-H446 (Cytion katalognummer 305049)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

NCI-H446-celler | 305049

CellosaurusAccession	CVCL_1562

Biomolekylære data

Tumorigenic	Ja, i nøgenmus (cellerne danner transplanterbare tumorer med ikke-typisk SCLC-histologi).

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler med 10 % FBS, tilsæt 2,5 g/L glukose, 10 mM HEPES og 1,0 mM natriumpyruvat
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Saml de suspenderede celler i et 15 ml rør, og vask forsigtigt de klæbende celler med PBS uden calcium og magnesium (brug 3-5 ml til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml til T25-kolber, 2,5 ml til T75-kolber) for at sikre fuld dækning af cellelaget. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 10 minutter. Efter inkubationen kombineres og centrifugeres både suspensionen og de vedhæftede celler. Efter centrifugering resuspenderes cellepelleten forsigtigt, og cellesuspensionen overføres til nye kolber, der indeholder frisk medium.
Split ratio	1:3 til 1:4
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befugtet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.
Shipping Conditions	Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

STR-profil	**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