

NCI-H446-Zellen | 305049

Allgemeine Informationen

Description Diese Zelllinie wurde 1982 von D. Carney, A.F. Gazdar und Mitarbeitern aus der Pleuraflüssigkeit eines Patienten mit kleinzelligem Lungenkrebs hergestellt. Die ursprüngliche Tumormorphologie war nicht charakteristisch für kleinzelligen Lungenkrebs. Die Zelllinie ist in Biochemie und Morphologie eine Variante des kleinzelligen Lungenkrebses und exprimiert neuronenspezifische Enolase sowie das Hirnisoenzym der Kreatinkinase. In der Zelllinie wurde keine L-DOPA-Decarboxylase, kein Bombesin, Vasopressin, Oxytocin oder Gastrin freisetzendes Peptid nachgewiesen. Diese Zelllinie weist einen 20-fach höheren Grad an c-myc-DNA-Amplifikation und einen 15-fach höheren Grad an c-myc-RNA auf. Die Zelllinie wurde ursprünglich in serumfreiem RPMI 1640-Medium vermehrt, das mit 10 nM Hydrocortison, 5 Mikrogramm/ml Insulin, 10 Mikrogramm/ml Transferrin, 10 nM 17-beta-Östradiol und 30 nM Natriumselenit ergänzt wurde. Die Zellen können transplantierbare Tumore mit nicht-typischem kleinzelligem Lungenkrebs bilden.

Organism Menschen

Tissue Lunge

Disease Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Metastatic site Pleuraerguss

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

Merkmale

Age 61 Jahre

Gender Männlich

Ethnicity Europäisch

Morphology Epithelähnlich

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation NCI-H446 (Cytion-Katalognummer 305049)

Biosafety level 1

NCI-H446-Zellen | 305049

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1562

Biomolekulare Daten

Tumorigenic Ja, in Nacktmäusen (Die Zellen bilden transplantierbare Tumore mit untypischer SCLC-Histologie).

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10 % FBS, fügen Sie 2,5 g/L Glukose, 10 mM HEPES und 1,0 mM Natriumpyruvat hinzu

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Die Suspensionszellen in einem 15-ml-Röhrchen sammeln und die anhaftenden Zellen vorsichtig mit PBS ohne Kalzium und Magnesium waschen (3-5 ml für T25-Kolben und 5-10 ml für T75-Kolben verwenden). Accutase auftragen (1-2 ml für T25-Kolben, 2,5 ml für T75-Kolben), um sicherzustellen, dass die Zellschicht vollständig bedeckt ist. Die Zellen 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren lassen. Nach der Inkubation sowohl die Suspension als auch die adhären Zellen mischen und zentrifugieren. Nach der Zentrifugation das Zellpellet vorsichtig resuspendieren und die Zellsuspension in neue Flaschen mit frischem Medium überführen.

Split ratio 1: 3 bis 1: 4

Fluid renewal 2 bis 3 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

NCI-H446-Zellen | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NCI-H446-Zellen | 305049

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

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