

Κύτταρα NCI-H146 | 300182

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά NCI-H146 προήλθε από τον A.F. Gazdar και τους συνεργάτες του το 1979 από το πλευριτικό υγρό ενός ασθενούς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Το δείγμα μυελού των οστών ελήφθη πριν από τη θεραπεία.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Πνεύμονας
Disease	Μικροκυτταρικό καρκίνωμα
Metastatic site	Μυελός των οστών
Synonyms	H146, H-146, NCIH146

Χαρακτηριστικά

Age	59 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Αδρανής σε αιώρηση

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	NCI-H146 (αριθμός καταλόγου Cytion 300182)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1473

Βιομοριακά δεδομένα

Κύτταρα NCI-H146 | 300182

Receptors expressed	Υποδοχέας του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα II (IGF II)
Protein expression	Τα κύτταρα χρωματίζονται θετικά για βιμεντίνη και κερατίνη, αλλά είναι αρνητικά για την τριπλέτα πρωτεΐνη νευροϊνών.
Antigen expression	Η γραμμή εκφράζει αυξημένα επίπεδα τεσσάρων βιοχημικών δεικτών: νευροειδής ενολάση, εγκεφαλικό ισοένζυμο της κινάσης της κρεατίνης, L-DOPA αποκαρβοξυλάση και ανοσοαντιδραστικότητα τύπου βομβεσίνης
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, Phenotype Frequency Product = 0.0009
Tumorigenic	Σχηματίζει μεταμοσχεύσιμους όγκους σε γυμνά ποντίκια οι οποίοι ιστολογικά μοιάζουν με τα καρκινικά κύτταρα από το αρχικό δείγμα βιοψίας
Products	Τα κύτταρα παράγουν σχετικά υψηλές ποσότητες mRNA c-myc, αλλά οι αλληλουχίες DNA c-myc δεν ενισχύονται. Τα κύτταρα δεν εκφράζουν βαζοπρεσίνη, ωκυτοκίνη ή πεπτιδίο απελευθέρωσης γαστρίνης.
Ploidy status	Ανευπλοειδές
MSI-status	Σταθερό (MSS)
Karyotype	Πρόκειται για μια σχεδόν τριπλοειδή ανθρώπινη κυτταρική σειρά. Ο μέσος αριθμός χρωμοσωμάτων είναι 68, αλλά κύτταρα με 66, 70 και 71 χρωμοσώματα εμφανίζονται επίσης συχνά. Τα χρωμοσώματα x ήταν ζευγαρωμένα και κανένα χρωμόσωμα Y δεν ανιχνεύθηκε σε παρασκευάσματα με χρώση QM.

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS
Subculturing	Τα κύτταρα θα πρέπει να υποκαλλιεργούνται μεταφέροντας μέρος του εναιωρήματος σε νέες φιάλες κυτταροκαλλιέργειας που έχουν προγεμιστεί με φρέσκο μέσο. Εναλλακτικά, οι συστάδες μπορούν να συλλεχθούν με φυγοκέντρηση και να επαναιωρηθούν σε νέο μέσο.
Seeding density	1 έως 2 x 10 ⁵ κύτταρα/ml
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης για τουλάχιστον 24 έως 48 ώρες.

Κύτταρα NCI-H146 | 300182**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Κύτταρα NCI-H146 | 300182**Freezing Procedure**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

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