

Κύτταρα NCI-H446 | 305049

Γενικές πληροφορίες

Description Αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε το 1982 από τους D. Carney, A.F. Gazdar και συνεργάτες από το πλευριτικό υγρό ενός ασθενούς με μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα. Η αρχική μορφολογία του όγκου δεν ήταν χαρακτηριστική του μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα. Η κυτταρική σειρά αποτελεί παραλλαγή του μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα ως προς τη βιοχημεία και τη μορφολογία και εκφράζει τη νευροειδική ενολάση καθώς και το εγκεφαλικό ισοένζυμο της κινάσης της κρεατίνης. Στην κυτταρική σειρά δεν ανιχνεύθηκε καμία από τις ουσίες L-DOPA αποκαρβοξυλάση, βομβεσίνη, αγγειοπρεσίνη, ωκυτοκίνη ή πεπτίδιο απελευθέρωσης γαστρίνης. Η εν λόγω κυτταρική σειρά παρουσιάζει 20 φορές υψηλότερο βαθμό ενίσχυσης του c-myc DNA και 15 φορές υψηλότερο βαθμό c-myc RNA. Η κυτταρική σειρά πολλαπλασιάστηκε αρχικά σε μέσο RPMI 1640 χωρίς ορό, συμπληρωμένο με 10 nM υδροκορτιζόνης, 5 μικρογραμμάρια/ml ινσουλίνης, 10 μικρογραμμάρια/ml τρανσφερίνης, 10 nM 17-β-οιστραδιόλης και 30 nM σεληνίτη νατρίου. Από τα κύτταρα μπορούν να σχηματιστούν μεταμοσχεύσιμοι όγκοι με ιστολογία μη τυπικού μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

Disease Μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα

Metastatic site Υπεζωκοτική συλλογή

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

Χαρακτηριστικά

Age 61 χρόνια

Gender Άντρας

Ethnicity Ευρωπαϊκό

Morphology Επιθηλιοειδής

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation NCI-H446 (αριθμός καταλόγου Cytion 305049)

Κύτταρα NCI-H446 | 305049

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1562

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια (τα κύτταρα σχηματίζουν μεταμοσχεύσιμους όγκους με μη τυπική ιστολογία SCLC).
--------------------	--

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 μέσο με 10% FBS, προσθέστε 2,5 g/L γλυκόζης, 10 mM HEPES και 1,0 mM πυρουβικού νατρίου
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Συγκεντρώστε τα εναιωρήματα σε ένα σωληνάριο των 15 ml και πλύνετε απαλά τα προσκολλημένα κύτταρα με PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (χρησιμοποιήστε 3-5 ml για φιάλες T25 και 5-10 ml για φιάλες T75). Εφαρμόστε Accutase (1-2 ml για φιάλες T25, 2,5 ml για φιάλες T75) εξασφαλίζοντας πλήρη κάλυψη της κυτταρικής στιβάδας. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Μετά την επώαση, συνδυάστε και φυγοκεντρίστε τόσο το εναιώρημα όσο και τα προσκολλημένα κύτταρα. Μετά τη φυγοκέντρηση, ανασυγκεντρώστε προσεκτικά το κυτταρικό σφαιρίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο.
---------------------	---

Split ratio	1:3 έως 1:4
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
----------------------	----------------------------

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.
----------------------	---

Κύτταρα NCI-H446 | 305049

**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 κρουφιαλίδιο 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 κρουφιαλίδιο 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 x 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

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες 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.

Κύτταρα NCI-H446 | 305049**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.

Προφίλ 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