

## NCI-H446 rakud | 305049

## Üldine teave

**Description** See rakuliin loodi 1982. aastal D. Carney, A.F. Gazdari ja kaaslaste poolt väikse kopsuvähiga patsiendi pleura vedelikust. Algne kasvajamorfoloogia ei olnud väikse rakuga kopsuvähile iseloomulik. Rakuliin on biokeemiliselt ja morfoloogiliselt väikse kopsuvähi variant ja ekspresseerib neuronspetsiifilist enolaasi ning aju kreatiinkinaasi isoensüümi. Rakuliinis ei ole tuvastatud L-DOPA dekarboksülaasi, bombesiini, vasopressiini, oksütotsiini ega gastriini vabastavat peptiidi. Sellel rakuliinil on 20 korda suurem c-myc DNA amplifikatsioon ja 15 korda suurem c-myc RNA. Rakuliini paljundati algselt seerumivabas RPMI 1640 keskkonnas, millele lisati 10 nM hüdrokortisooni, 5 mikrogrammi/ml insuliini, 10 mikrogrammi/ml transferriini, 10 nM 17-beeta-östradioli ja 30 nM naatriumseleniiti. Rakkudest võivad moodustuda mittetüüpilise väikse kopsuvähi histoloogiaga siirdatavad kasvajakud.

**Organism** Inimene

**Tissue** Kopsud

**Disease** Kopsu väikerakk-kartsinoom

**Metastatic site** Pleuraefusioon

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

## Omadused

**Age** 61 aastat

**Gender** Mees

**Ethnicity** Euroopa

**Morphology** Epiteelilaadsed

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** NCI-H446 (Cytioni katalooginumbr 305049)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

## NCI-H446 rakud | 305049

CellosaurusAccession CVCL\_1562

## Biomolekulaarsed andmed

**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel (rakud moodustavad siirdamiskõlblikke kasvajaid, mille histoloogia on ebatüüpiline SCLC).

## Töötlemine

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga, lisada 2,5 g/l glükoosi, 10 mM HEPES ja 1,0 mM naatriumpüruvaati**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Koguge suspensioonirakud 15 ml tuubi ja peske kleepunud rakud ettevaatlikult PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium (kasutage 3-5 ml T25 kolbide puhul ja 5-10 ml T75 kolbide puhul). Kandke Accutase'i (1-2 ml T25 kolvidesse, 2,5 ml T75 kolvidesse), tagades rakukihhi täieliku katvuse. Laske rakkudel 10 minutit toatemperatuuril inkubeerida. Pärast inkubeerimist ühendage ja tsentrifugeerige nii suspensioon kui ka adherentsed rakud. Pärast tsentrifugeerimist resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult ja kandke rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötmeainet.**Split ratio** 1:3 kuni 1:4**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## NCI-H446 rakud | 305049

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## NCI-H446 rakud | 305049

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### STR-profiil

**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