

NCI-H146-solut | 300182

Yleisiä tietoja

Description	A.F. Gazdar ja kumppanit saivat NCI-H146-solulinjan vuonna 1979 pienisoluista keuhkosyöpää sairastavan potilaan pleuranesteestä. Luuydinnäyte otettiin ennen hoitoa.
Organism	Ihminen
Tissue	Keuhkot
Disease	Pienisoluiinen karsinooma
Metastatic site	Luuydin
Synonyms	H146, H-146, NCIH146

Ominaisuudet

Age	59 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Ripustetut kiviainekset

Säätelytiedot

Citation	NCI-H146 (Cytionin luettelonumero 300182)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1473

Biomolekyylitiedot

NCI-H146-solut | 300182

Receptors expressed	Insuliinin kaltaisen kasvutekijä II:n reseptori (IGF II)
Protein expression	Solut värjäytyvät positiivisesti vimentiinille ja keratiinille, mutta ovat negatiivisia neurofilamentti-triplet-proteiinille.
Antigen expression	Linja ilmentää kohonneita neljän biokemiallisen merkkiaineen pitoisuuksia: neuronispesifinen enolaasi, aivojen kreatiinikinaasin isoentsyymi, L-DOPA-dekarboksylaasi ja bombesiinin kaltainen immunoreaktiivisuus
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotyypin frekvenssituote = 0,0009
Tumorigenic	Muodostaa alastomiin hiiriin siirrettäviä kasvaimia, jotka muistuttavat histologisesti alkuperäisen koepalanäytteen kasvainsoluja
Products	Solut tuottavat suhteellisen suuria määriä c-myc-mRNA:ta, mutta c-myc-DNA-sekvenssit eivät monistu. Solut eivät ilmentä vasopressiinia, oksitosiinia tai gastriinia vapauttavaa peptidiä.
Ploidy status	Aneuploidinen
MSI-status	Vakaa (MSS)
Karyotype	Tämä on lähes triploidi ihmisen solulinja. Modaalinen kromosomiluku on 68, mutta myös soluja, joissa on 66, 70 ja 71 kromosomia, esiintyy usein. X-kromosomit olivat parittaisia, eikä Y-kromosomia havaittu QM-värjätyissä valmisteissa.

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % lämpöinaktivoidulla FBS:llä
Subculturing	Solut on viljeltävä edelleen siirtämällä osa suspensiosta uusiin tuoreisiin soluviljelypulloihin, jotka on esitötetty tuoreella elatusaineella. Vaihtoehtoisesti klusterit voidaan kerätä sentrifugoimalla ja suspendoida uudelleen tuoreeseen väliaineeseen.
Seeding density	1–2 x 10 ⁵ solua/ml
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulatuksen jälkeen solujen annetaan toipua pakastusprosessista vähintään 24-48 tuntia.

NCI-H146-solut | 300182

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCI-H146-solut | 300182

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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