

NCI-H446-solut | 305049

Yleisiä tietoja

Description D. Carney, A.F. Gazdar ja kumppanit perustivat tämän solulinjan vuonna 1982 pienisoluisista keuhkosyöpää sairastavan potilaan pleuranesteestä. Alkuperäinen kasvaimen morfologia ei ollut pienisoluiselle keuhkosyövälle ominainen. Solulinja on biokemialtaan ja morfologialtaan pienisoluisen keuhkosyövän muunnos, ja se ilmentää neuronispesifistä enolaasia sekä aivojen kreatiinikinaasin isoentsyymiä. Solulinjassa ei ole havaittu L-DOPA-dekarboksylaasia, bombesiinia, vasopressiinia, oksitosiinia tai gastriinia vapauttavaa peptidiä. Tässä solulinjassa c-myc-DNA:n monistumisaste on 20-kertainen ja c-myc-RNA:n 15-kertainen. Solulinja kasvatettiin alun perin seerumivapaassa RPMI 1640 -mediassa, jota täydennettiin 10 nM hydrokortisonilla, 5 mikrogrammaa/ml insuliinilla, 10 mikrogrammaa/ml transferrinillä, 10 nM 17-beta-estradiolilla ja 30 nM natriumseleniitillä. Soluista voidaan muodostaa siirrettäviä kasvaimia, joiden histologia on epätyypillinen pienisoluisen keuhkosyöpä.

Organism Ihminen

Tissue Keuhkot

Disease Keuhkojen pienisoluisen karsinoma

Metastatic site Pleuraeffuusio

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

Ominaisuudet

Age 61 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Eurooppalainen

Morphology Epiteelin kaltaiset

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation NCI-H446 (Cytionin luettelonumero 305049)

Biosafety level 1

NCI-H446-solut | 305049

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1562

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic Kyllä, alastomilla hiirillä (solut muodostavat siirrettäviä kasvaimia, joiden histologia on epätyypillinen SCLC).

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään väliaine 10 %:lla FBS:ää, lisätään 2,5 g/l glukoosia, 10 mM HEPES:ää ja 1,0 mM natriumpyruvaattia**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Kerää suspensiosolut 15 ml:n putkeen ja pese kiinni olevat solut varovasti PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia (3-5 ml T25-pulloissa ja 5-10 ml T75-pulloissa). Levitä Accutasea (1-2 ml T25-pulloihin, 2,5 ml T75-pulloihin) varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 10 minuuttia. Inkuboinnin jälkeen yhdistetään ja sentrifugoidaan sekä suspensio että adherentit solut. Sentrifugoinnin jälkeen solupelletti suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensio uusiin pulloihin, jotka sisältävät tuoretta väliaineita.**Split ratio** 1:3–1:4**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**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 osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NCI-H446-solut | 305049

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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.

**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.

NCI-H446-solut | 305049

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 määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

STR-profiili

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