

Cellules NCI-H446 | 305049

Informations générales

Description Cette lignée cellulaire a été créée en 1982 par D. Carney, A.F. Gazdar et ses collaborateurs à partir du liquide pleural d'un patient atteint d'un cancer du poumon à petites cellules. La morphologie initiale de la tumeur n'était pas caractéristique d'un cancer du poumon à petites cellules. La lignée cellulaire est une variante du cancer du poumon à petites cellules en termes de biochimie et de morphologie, et exprime l'énolase spécifique des neurones ainsi que l'isoenzyme cérébrale de la créatine kinase. Aucune L-DOPA décarboxylase, bombésine, vasopressine, ocytocine ou peptide libérateur de gastrine n'a été détectée dans la lignée cellulaire. Cette lignée cellulaire présente un degré d'amplification de l'ADN c-myc 20 fois plus élevé et un degré d'ARN c-myc 15 fois plus élevé. La lignée cellulaire a été initialement multipliée dans un milieu RPMI 1640 sans sérum, supplémenté avec 10 nM d'hydrocortisone, 5 microgrammes/mL d'insuline, 10 microgrammes/mL de transferrine, 10 nM de 17-bêta-estradiol, et 30 nM de sélénite de sodium. Les cellules peuvent former des tumeurs transplantables présentant une histologie de cancer du poumon à petites cellules non typhique.

Organism Humain

Tissue Poumon

Disease Carcinome pulmonaire à petites cellules

Metastatic site Effusion pleurale

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

Caractéristiques

Age 61 ans

Gender Homme

Ethnicity Européen

Morphology De type épithélial

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation NCI-H446 (numéro de catalogue Cytion 305049)

Biosafety level 1

Cellules NCI-H446 | 305049

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1562

Données biomoléculaires

Tumorigenic Oui, chez la souris nude (les cellules forment des tumeurs transplantables avec une histologie SCLC non-typique).

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)

Supplements Compléter le milieu avec 10 % de FBS, ajouter 2,5 g/L de glucose, 10 mM d'HEPES et 1,0 mM de pyruvate de sodium

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rassembler les cellules en suspension dans un tube de 15 ml et laver délicatement les cellules adhérentes avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium (utiliser 3-5 ml pour les flacons T25 et 5-10 ml pour les flacons T75). Appliquer Accutase (1-2 ml pour les flacons T25, 2,5 ml pour les flacons T75) en veillant à couvrir entièrement la couche cellulaire. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Après l'incubation, combiner et centrifuger la suspension et les cellules adhérentes. Après centrifugation, remettre soigneusement en suspension le culot cellulaire et transférer la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.

Split ratio 1 : 3 à 1 : 4

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules NCI-H446 | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules NCI-H446 | 305049

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil 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