

NCI-H146 sejtek | 300182

Általános információk

Description	Az NCI-H146 sejt vonalat A.F. Gazdar és munkatársai 1979-ben egy kissejtes tüdőrákban szenvedő beteg mellhártyájának folyadékából nyerték. A csontvelőmintát a terápia előtt vették.
Organism	Emberi
Tissue	Tüdő
Disease	Kissejtes karcinóma
Metastatic site	Csontvelő
Synonyms	H146, H-146, NCIH146

Jellemzők

Age	59 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Aggregátumok szuszpenzióban

Szabályozási adatok

Citation	NCI-H146 (Cytion katalógusszám: 300182)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1473

Biomolekuláris adatok

NCI-H146 sejtek | 300182

Receptors expressed	Inzulinszerű növekedési faktor II receptor (IGF II)
Protein expression	A sejtek pozitívan festődnek vimentinre és keratinra, de negatívak neurofilament triplet fehérjére.
Antigen expression	A vonal négy biokémiai marker emelkedett szintjét fejezi ki: neuronspecifikus enoláz, a kreatin-kináz agyi izoenzimje, L-DOPA dekarboxiláz és bombesin-szerű immunreaktivitás
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotípus gyakorisági termék = 0,0009
Tumorigenic	Transzplantálható tumorokat képez meztelen egerekben, amelyek szövettanilag hasonlítanak az eredeti biopsziás mintából származó tumorsejtekhez
Products	A sejtek viszonylag nagy mennyiségű c-myc mRNS-t termelnek, de a c-myc DNS-szekvenciák nem amplifikálódnak. A sejtek nem expresszálják a vazopresszint, az oxitocint vagy a gasztrin felszabadító peptidet.
Ploidy status	Aneuploid
MSI-status	Stabil (MSS)
Karyotype	Ez egy közel triploid emberi sejtvonal. A kromoszómaszám 68, de gyakran előfordultak 66, 70 és 71 kromoszómával rendelkező sejtek is. Az x kromoszómák párosítva voltak, és a QM festett preparátumokban nem volt Y kromoszóma kimutatható.

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt 10% hővel inaktivált FBS-szel egészítsük ki
Subculturing	A sejteket szubkulturálni kell a szuszpenzió egy részének friss, új, friss tápfolyadékkal előretöltött sejtenyésztő lombikokba történő átültetésével. Alternatív megoldásként a klasztereket centrifugálással össze lehet gyűjteni és friss tápfolyadékban újra szuszpendálni.
Seeding density	1–2 x 10 ⁵ sejt/ml
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
Post-Thaw Recovery	A felolvasztás után hagyja, hogy a sejtek legalább 24-48 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból.

NCI-H146 sejtek | 300182

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüveget 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtanyagot 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt-kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCI-H146 sejtek | 300182

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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