

NCI-H446 sejtek | 305049

Általános információk

Description Ezt a sejtvonalat 1982-ben D. Carney, A.F. Gazdar és munkatársai hozták létre egy kissejtes tüdőrákban szenvedő beteg mellhártyájának folyadékából. Az eredeti tumormorfológia nem volt jellemző a kissejtes tüdőrákra. A sejtvonal biokémiai és morfológiai szempontból a kissejtes tüdőrák variánsának felel meg, és expresszálja a neuronspecifikus enolázt, valamint a kreatin-kináz agyi izoenzimét. A sejtvonalban nem mutatták ki az L-DOPA dekarboxiláz, a bombesin, a vazopresszin, az oxitocin vagy a gasztrin felszabadító peptid egyikét sem. Ebben a sejtvonalban 20-szoros a c-myc DNS-amplifikáció és 15-szörös a c-myc RNS-amplifikáció mértéke. A sejtvonalat eredetileg 10 nM hidrokortizon, 5 mikrogramm/ml inzulin, 10 mikrogramm/ml transferrin, 10 nM 17-béta-ösztadiol és 30 nM nátrium-szelenit tartalmú szérummentes RPMI 1640-es tápfolyadékban szaporították. A sejtekből nem tipikus kissejtes tüdőrák szövettanú transzplantálható tumorok képződhetnek.

Organism Emberi

Tissue Tüdő

Disease Tüdő kissejtes karcinóma

Metastatic site Pleura folyadékgyülem

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

Jellemzők

Age 61 év

Gender Férfi

Ethnicity Európai

Morphology Epithelszerű

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation NCI-H446 (Cytion katalógusszám: 305049)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCI-H446 sejtek | 305049

CellosaurusAccession CVCL_1562

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic Igen, meztelen egerekben (a sejtek nem tipikus SCLC szövettani felépítésű, transzplantálható tumorokat képeznek).

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, adjunk hozzá 2,5 g/l glükózt, 10 mM HEPES-t és 1,0 mM nátrium-piruvátot

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Gyűjtse össze a szuszpenziós sejteket egy 15 ml-es csőbe, és óvatosan mossa át a megtapadt sejteket kalciumot és magnéziumot nem tartalmazó PBS-szel (T25 lombik esetén 3-5 ml-t, T75 lombik esetén 5-10 ml-t használjon). Vigyen fel Accutase-t (1-2 ml-t T25 lombikokhoz, 2,5 ml-t T75 lombikokhoz), biztosítva a sejtréteg teljes lefedettségét. Hagyjuk a sejteket 10 percig szobahőmérsékleten inkubálni. Az inkubációt követően egyesítsük és centrifugáljuk a szuszpenziót és az adhezív sejteket. A centrifugálás után óvatosan reszuszpendáljuk a sejt pelletet, és a sejtsuszpenziót helyezzük át friss tápfolyadékot tartalmazó új lombikokba.

Split ratio 1:3–1:4

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvastás 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.

NCI-H446 sejtek | 305049

**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 °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 °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 kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót 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 sejt pelletet 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , párasított légkör.**Flask Coating**

Nincs

**Freezing
Procedure**

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

**Shipping
Conditions**

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

NCI-H446 sejtek | 305049

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °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.

STR profil

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