

Cellule NCI-H446 | 305049

Informazioni generali

Description Questa linea cellulare è stata creata nel 1982 da D. Carney, A.F. Gazdar e collaboratori a partire dal liquido pleurico di un paziente con tumore polmonare a piccole cellule. La morfologia originale del tumore non era caratteristica del carcinoma polmonare a piccole cellule. La linea cellulare è una variante del carcinoma polmonare a piccole cellule per biochimica e morfologia ed esprime l'enzima specifica dei neuroni e l'isoenzima cerebrale della creatina chinasi. Nella linea cellulare non è stata rilevata alcuna L-DOPA decarbossilasi, bombesina, vasopressina, ossitocina o peptide di rilascio della gastrina. Questa linea cellulare presenta un grado di amplificazione del DNA di c-myc 20 volte superiore e un grado di RNA di c-myc 15 volte superiore. La linea cellulare è stata originariamente propagata in terreno RPMI 1640 privo di siero e integrato con 10 nM di idrocortisone, 5 microgrammi/mL di insulina, 10 microgrammi/mL di transferrina, 10 nM di 17-beta-estradolo e 30 nM di selenito di sodio. Le cellule possono formare tumori trapiantabili con istologia di carcinoma polmonare a piccole cellule non tipico.

Organism Umano

Tissue Polmone

Disease Carcinoma polmonare a piccole cellule

Metastatic site Effusione pleurica

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

Caratteristiche

Age 61 anni

Gender Uomo

Ethnicity Europeo

Morphology Simile all'epitelio

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation NCI-H446 (catalogo Cytion numero 305049)

Biosafety level 1

Cellule NCI-H446 | 305049**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1562**Dati biomolecolari****Tumorigenic** Sì, in topi nudi (le cellule formano tumori trapiantabili con istologia SCLC non tipica).**Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno con il 10% di FBS, aggiungere 2,5 g/L di glucosio, 10 mM di HEPES e 1,0 mM di piruvato di sodio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Raccogliere le cellule in sospensione in una provetta da 15 ml e lavare delicatamente le cellule aderenti con PBS privo di calcio e magnesio (utilizzare 3-5 ml per le fiasche T25 e 5-10 ml per le fiasche T75). Applicare Accutase (1-2 ml per le beute T25, 2,5 ml per le beute T75) assicurando la copertura completa dello strato cellulare. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 10 minuti. Dopo l'incubazione, unire e centrifugare sia la sospensione che le cellule aderenti. Dopo la centrifugazione, risospendere accuratamente il pellet cellulare e trasferire la sospensione cellulare in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Split ratio** 1: 3 a 1: 4**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule NCI-H446 | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NCI-H446 | 305049

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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