

NCI-H446 ląstelės | 305049

Bendra informacija

Description Šią ląstelių liniją 1982 m. sukūrė D. Carney, A. F. Gazdaras ir bendradarbiai iš paciento, sergančio smulkialąstelinio plaučių vėžiu, pleuros skysčio. Pradinė naviko morfologija nebuvo būdinga smulkialąsteliniam plaučių vėžiui. Ląstelių linija pagal biochemiją ir morfologiją yra smulkialąstelinio plaučių vėžio variantas, ji ekspresuoja neuronams specifinę enolazę ir smegenų kreatinkinazės izofermentą. Ląstelių linijoje neaptikta L-DOPA dekarboksilazės, bombesino, vazopresino, oksitocino ar gastriną atpalaiduojančio peptido. Ši ląstelių linija pasižymi 20 kartų didesniu c-myc DNR amplifikacijos laipsniu ir 15 kartų didesniu c-myc RNR amplifikacijos laipsniu. Ląstelių linija iš pradžių buvo dauginama RPMI 1640 terpėje be serumo, papildytoje 10 nM hidrokortizono, 5 mikrogramais/ml insulino, 10 mikrogramų/ml transferino, 10 nM 17-beta-estradiolio ir 30 nM natrio selenito. Ląstelės gali suformuoti transplantuojamus netipinio smulkiųjų ląstelių plaučių vėžio histologinius navikus.

Organism Žmogus

Tissue Plaučiai

Disease Plaučių smulkiųjų ląstelių karcinoma

Metastatic site Pleuros efuzija

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

Charakteristikos

Age 61 metai

Gender Vyras

Ethnicity Europos

Morphology Į epitelį panašus

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation NCI-H446 (Cytion katalogo numeris 305049)

Biosafety level 1

NCI-H446 ląstelės | 305049

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1562

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic Taip, nuogoms pelėms (ląstelės suformuoja transplantuojamus navikus, kurių histologija nėra tipiška SCLC).

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, pridėkite 2,5 g/l gliukozės, 10 mM HEPES ir 1,0 mM natrio piruvato**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Surinkite ląstelių suspensiją į 15 ml mėgintuvėlį ir švelniai nuplaukite prilipusias ląsteles PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio (naudokite 3-5 ml T25 kolboms ir 5-10 ml T75 kolboms). Užtepkite "Accutase" (1-2 ml T25 kolboms, 2,5 ml T75 kolboms), kad visiškai padengtumėte ląstelių sluoksnį. Leiskite ląstelėms 10 minučių inkubuotis kambario temperatūroje. Po inkubacijos sumaišykite ir centrifuguokite suspensiją ir prilipusias ląsteles. Po centrifugavimo atsargiai resuspenduokite ląstelių granules ir perkeltite ląstelių suspensiją į naujas kolbas su šviežia terpe.**Split ratio** 1:3–1:4**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NCI-H446 ląstelės | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NCI-H446 ląstelės | 305049

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

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