

## NCI-H146 šūnas | 300182

## Vispārīga informācija

<b>Description</b>	NCI-H146 šūnu līniju 1979. gadā ieguva A. F. Gazdars (A. F. Gazdar) un viņa līdzstrādnieki no pleiras šķidrums, kas iegūts pacientam ar plaušu sīkšūnu vēzi. Kaulu smadzeņu paraugs tika ņemts pirms terapijas.
<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Plaušas
<b>Disease</b>	Mazšūnu karcinoma
<b>Metastatic site</b>	Kaulu smadzenes
<b>Synonyms</b>	H146, H-146, NCIH146

## Raksturojums

<b>Age</b>	59 gadi
<b>Gender</b>	Vīrieši
<b>Ethnicity</b>	Kaukāzietis
<b>Morphology</b>	Epitēlijveidīgs
<b>Growth properties</b>	Agregāti suspensijā

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	NCI-H146 (Cytion kataloga numurs 300182)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1473

## Biomolekulārie dati

## NCI-H146 šūnas | 300182

<b>Receptors expressed</b>	Insulīnam līdzīgā augšanas faktora II receptoru (IGF II)
<b>Protein expression</b>	Šūnas pozitīvi krāsojas attiecībā uz vimentīnu un keratīnu, bet ir negatīvas attiecībā uz neurofilamentu tripleta proteīnu.
<b>Antigen expression</b>	Šī līnija uzrāda paaugstinātu četru bioķīmisko marķieru līmeni: neironiem specifiskās enolāzes, smadzeņu kreatīnkināzes izoenzīma, L-DOPA dekarboksilāzes un bombesīnam līdzīgās imūnreaktivitātes
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotipu biežuma produkts = 0,0009
<b>Tumorigenic</b>	Veido transplantējamus audzējus nude pelēm, kas histoloģiski līdzinās audzēja šūnām no sākotnējā biopsijas parauga
<b>Products</b>	Šūnās veidojas salīdzinoši liels c-myc mRNS daudzums, bet c-myc DNS sekvences netiek pavairotas. Šūnas neizsaka vazopresīnu, oksitocīnu vai gastrīnu atbrīvojošo peptīdu.
<b>Ploidy status</b>	Aneuploīds
<b>MSI-status</b>	Stabils (MSS)
<b>Karyotype</b>	Šī ir gandrīz triploīda cilvēka šūnu līnija. Modālais hromosomu skaits ir 68, bet bieži sastopamas arī šūnas ar 66, 70 un 71 hromosomu. X hromosomas bija pārainas, un QM iekrāsotajos preparātos netika konstatēta Y hromosoma.
<b>Darbs ar</b>	
<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
<b>Supplements</b>	Papildināt barotni ar 10% termiski inaktivētu FBS
<b>Subculturing</b>	Šūnas jākultivē, pārnesot daļu suspensijas uz jaunām šūnu kultūru kolbām, kas iepriekš piepildītas ar svaigu barotni. Alternatīvi kopas var savākt, centrifugējot, un atkārtoti suspendēt svaigā barotnē.
<b>Seeding density</b>	1 līdz $2 \times 10^5$ šūnas/ml
<b>Fluid renewal</b>	2 līdz 3 reizes nedēļā
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Pēc atkausēšanas ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa vismaz 24-48 stundas.

## NCI-H146 šūnas | 300182

**Freeze medium**

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar  $300 \times g$  3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Neviens

**Freezing Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## NCI-H146 šūnas | 300182

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

### HLA alēles

**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