

## NCI-H446-cellen | 305049

## Algemene informatie

**Description** Deze cellijn werd in 1982 door D. Carney, A.F. Gazdar en medewerkers ontwikkeld uit het pleurvocht van een patiënt met kleincellige longkanker. De oorspronkelijke tumormorfologie was niet karakteristiek voor kleincellige longkanker. De cellijn is qua biochemie en morfologie een variant van kleincellige longkanker en brengt neuronspecifieke enolase tot expressie, evenals het hersenisoenzym creatinekinase. Geen van L-DOPA decarboxylase, bombesine, vasopressine, oxytocine of gastrine releasing peptide is gedetecteerd in de cellijn. Deze cellijn vertoont een 20-voudig hogere graad van c-myc DNA amplificatie en een 15-voudig hogere graad van c-myc RNA. De cellijn werd oorspronkelijk gekweekt in serumvrij RPMI 1640 medium aangevuld met 10 nM hydrocortison, 5 microgram/mL insuline, 10 microgram/mL transferrine, 10 nM 17-beta-estradiol en 30 nM natriumseleniet. De cellen kunnen transplanteerbare tumoren vormen met een niet-typische histologie van kleincellige longkanker.

**Organism** Mens

**Tissue** Long

**Disease** Longkleincellig carcinoom

**Metastatic site** Pleurale Effusie

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

## Kenmerken

**Age** 61 jaar

**Gender** Mannelijk

**Ethnicity** Europese

**Morphology** Epitheelachtig

**Growth properties** Aanhangend

## Regelgevende gegevens

**Citation** NCI-H446 (Cytion catalogusnummer 305049)

**Biosafety level** 1

## NCI-H446-cellen | 305049

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_1562

## Biomoleculaire gegevens

**Tumorigenic** Ja, in naakte muizen (de cellen vormen transplanteerbare tumoren met een niet-typische histologie van SCLC).

## Omgaan met

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, voeg 2,5 g/L glucose, 10 mM HEPES en 1,0 mM natriumpyruvaat toe**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verzamel de suspensiecellen in een buis van 15 ml en was de aanhangende cellen voorzichtig met PBS zonder calcium en magnesium (gebruik 3-5 ml voor T25-flesjes en 5-10 ml voor T75-flesjes). Breng Accutase aan (1-2 ml voor T25-flesjes, 2,5 ml voor T75-flesjes) en zorg dat de cellaag volledig bedekt wordt. Laat de cellen 10 minuten bij kamertemperatuur incuberen. Na de incubatie zowel de suspensie als de aanhangende cellen combineren en centrifugeren. Na het centrifugeren de celpellet voorzichtig resuspenden en de celsuspensie overbrengen in nieuwe kolven met vers medium.**Split ratio** 1: 3 tot 1: 4**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

## NCI-H446-cellen | 305049

### Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij  $300 \times g$  om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , bevochtigde atmosfeer.

### Flask Coating

Geen

### Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

### Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## NCI-H446-cellen | 305049

### Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

## Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

### Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

### STR profiel

**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