

NCI-H146-celler | 300182

Generell informasjon

Description	NCI-H146-cellelinjen ble avledet av A.F. Gazdar og medarbeidere i 1979 fra pleuravæske fra en pasient med småcellet lungekreft. Benmargsprøven ble tatt før behandlingen.
Organism	Menneskelig
Tissue	Lunge
Disease	Småcellet karsinom
Metastatic site	Benmarg
Synonyms	H146, H-146, NCIH146

Kjennetegn

Age	59 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Aggregater i suspensjon

Regulatoriske data

Citation	NCI-H146 (Cytion katalognummer 300182)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1473

Biomolekylære data

NCI-H146-celler | 300182

Receptors expressed	Insulinlignende vekstfaktor II-reseptor (IGF II)
Protein expression	Cellene farges positivt for vimentin og keratin, men er negative for neurofilamenttripletprotein.
Antigen expression	Linjen uttrykker forhøyede nivåer av fire biokjemiske markører: nevronspesifikk enolase, hjerne-isoenzym av kreatinkinase, L-DOPA-dekarboksylase og bombesinlignende immunreaktivitet
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, Fenotypefrekvensprodukt = 0,0009
Tumorigenic	Danner transplanterbare svulster i nakenmus som histologisk ligner tumorceller fra den opprinnelige biopsiprøven
Products	Cellene produserer relativt store mengder c-myc mRNA, men c-myc DNA-sekvenser blir ikke amplifisert. Cellene uttrykker ikke vasopressin, oksytocin eller gastrinfrigjørende peptid.
Ploidy status	Aneuploid
MSI-status	Stabil (MSS)
Karyotype	Dette er en nær triploid human cellelinje. Det modale kromosomtallet er 68, men celler med 66, 70 og 71 kromosomer forekommer også hyppig. X-kromosomene var parete, og det ble ikke påvist noe Y-kromosom i QM-fargede preparater.
Håndtering	
Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % varmeinaktivert FBS
Subculturing	Cellene bør subkultiveres ved å overføre en del av suspensjonen til nye cellekulturflasker som er fylt med nytt medium. Alternativt kan klyngene samles opp ved sentrifugering og resuspenderes i nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:6 anbefales
Seeding density	1 til 2×10^5 celler/ml
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

NCI-H146-celler | 300182

Post-Thaw Recovery

Etter tining skal cellene få komme seg etter fryseprosessen i minst 24 til 48 timer.

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H146-celler | 300182

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

Amelogenin: x,x

HLA-alleler

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