

NCI-H446-celler | 305049

Generell informasjon

Description Denne cellelinjen ble etablert i 1982 av D. Carney, A.F. Gazdar og medarbeidere fra pleuravæske fra en pasient med småcellet lungekreft. Den opprinnelige tumormorfologien var ikke karakteristisk for småcellet lungekreft. Cellelinjen er en variant av småcellet lungekreft i biokjemi og morfologi, og uttrykker nevrospesifikk enolase samt hjerne-isoenzymet av kreatinkinase. Det er ikke påvist L-DOPA-dekarboksylase, bombesin, vasopressin, oksytocin eller gastrinfrigjørende peptid i cellelinjen. Denne cellelinjen viser en 20 ganger høyere grad av c-myc DNA-amplifisering og en 15 ganger høyere grad av c-myc RNA. Cellelinjen ble opprinnelig oppformert i serumfritt RPMI 1640-medium supplert med 10 nM hydrokortison, 5 mikrogram/mL insulin, 10 mikrogram/mL transferrin, 10 nM 17-beta-østradiol og 30 nM natriumselenitt. Cellene kan danne transplanterbare svulster med ikke-typisk småcellet lungekrefthistologi.

Organism Menneskelig

Tissue Lunge

Disease Småcellet lungekarsinom

Metastatic site Pleuraeffusjon

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

Kjennetegn

Age 61 år

Gender Mann

Ethnicity Europeisk

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation NCI-H446 (Cytion-katalognummer 305049)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCI-H446-celler | 305049

CellosaurusAccession CVCL_1562

Biomolekylære data**Tumorigenic** Ja, i nakne mus (cellene danner transplanterbare svulster med ikke-typisk SCLC-histologi).**Håndtering****Culture Medium** RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler med 10 % FBS, tilsett 2,5 g/L glukose, 10 mM HEPES og 1,0 mM natriumpyruvat**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Samle suspensjonscellene i et 15 ml rør, og vask de adherente cellene forsiktig med PBS uten kalsium og magnesium (bruk 3-5 ml for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber). Påfør Accutase (1-2 ml for T25-kolber, 2,5 ml for T75-kolber) og sørg for full dekning av cellelaget. La cellene inkubere i romtemperatur i 10 minutter. Etter inkubasjon kombineres og sentrifugeres både suspensjonen og de adherente cellene. Etter sentrifugering resuspenderes cellepelletten forsiktig, og celsuspensjonen overføres til nye kolber som inneholder nytt medium.**Split ratio** 1: 3 til 1: 4**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**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 osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

NCI-H446-celler | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst 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 dyrkningsmedium, 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 cellepelleten 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.

Shipping Conditions

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-H446-celler | 305049

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

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