

Komórki NCI-H146 | 300182

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa NCI-H146 została uzyskana przez A.F. Gazdara i współpracowników w 1979 r. z płynu opłucnowego pacjenta z drobnokomórkowym rakiem płuca. Próbka szpiku kostnego została pobrana przed terapią.
Organism	Człowiek
Tissue	Płuco
Disease	Rak drobnokomórkowy
Metastatic site	Szpik kostny
Synonyms	H146, H-146, NCIH146

Charakterystyka

Age	59 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Kruszywa w zawiesinie

Dane regulacyjne

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

Dane biomolekularne

Komórki NCI-H146 | 300182

Receptors expressed	Receptor insulinopodobnego czynnika wzrostu II (IGF II)
Protein expression	Komórki wybarwiają się pozytywnie na wimentynę i keratynę, ale są ujemne dla białka tripletowego neurofilamentu.
Antigen expression	Linia ta wykazuje podwyższony poziom czterech markerów biochemicznych: enolazy swoistej dla neuronów, izoenzymu mózgowej kinazy kreatynowej, dekarboksylazy L-DOPA i immunoreaktywności podobnej do bombezyny
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, iloczyn częstości fenotypów = 0,0009
Tumorigenic	Tworzy przeszczepialne guzy u nagich myszy, które histologicznie przypominają komórki nowotworowe z oryginalnej próbki biopsyjnej
Products	Komórki wytwarzają stosunkowo duże ilości mRNA c-myc, ale sekwencje DNA c-myc nie są amplifikowane. Komórki nie wyrażają wazopresyny, oksytocyny ani peptydu uwalniającego gastrynę.
Ploidy status	Aneuploid
MSI-status	Stabilny (MSS)
Karyotype	Jest to prawie triploidalna ludzka linia komórkowa. Modalna liczba chromosomów wynosi 68, ale komórki z 66, 70 i 71 chromosomami również często występowały. Chromosomy x były sparowane i nie wykryto chromosomu Y w preparatach barwionych QM.
Obsługa	
Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie
Subculturing	Komórki powinny być podhodowane poprzez przeniesienie części zawiesiny do nowych kolb do hodowli komórkowych wypełnionych świeżą pożywką. Alternatywnie, skupiska można zebrać przez odwirowanie i ponownie zawiesić w świeżej pożywce.
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:6
Seeding density	1 do 2×10^5 komórek/ml
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu

Komórki NCI-H146 | 300182**Post-Thaw Recovery**

Po rozmrożeniu należy pozwolić komórkom dojść do siebie po procesie zamrażania przez co najmniej 24 do 48 godzin.

Freeze medium

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki NCI-H146 | 300182**Freezing Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x,x

Allele HLA

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