

Komórki NCI-H446 | 305049

Informacje ogólne

Description Ta linia komórkowa została utworzona w 1982 roku przez D. Carneya, A.F. Gazdara i współpracowników z płynu opłucnowego pacjenta z drobnokomórkowym rakiem płuca. Pierwotna morfologia guza nie była charakterystyczna dla drobnokomórkowego raka płuca. Linia komórkowa jest wariantem drobnokomórkowego raka płuca pod względem biochemicznym i morfologicznym oraz wykazuje ekspresję enolazy swoistej dla neuronów, jak również izoenzymu mózgowej kinazy kreatynowej. W linii komórkowej nie wykryto dekarboksylazy L-DOPA, bombezyny, wazopresyny, oksytocyny ani peptydu uwalniającego gastrynę. Ta linia komórkowa wykazuje 20-krotnie wyższy stopień amplifikacji DNA c-myc i 15-krotnie wyższy stopień c-myc RNA. Linia komórkowa była pierwotnie rozmnażana w wolnej od surowicy pożywce RPMI 1640 z dodatkiem 10 nM hydrokortyzonu, 5 mikrogramów/ml insuliny, 10 mikrogramów/ml transferyny, 10 nM 17-beta-estradolu i 30 nM seleninu sodu. Komórki mogą tworzyć guzy do przeszczepu o nietypowej histologii drobnokomórkowego raka płuca.

Organism Człowiek

Tissue Płuco

Disease Rak drobnokomórkowy płuca

Metastatic site Wąsłek opłucnowy

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

Charakterystyka

Age 61 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Europejski

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation NCI-H446 (numer katalogowy Cytion 305049)

Biosafety level 1

Komórki NCI-H446 | 305049**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1562**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tak, u nagich myszy (komórki tworzą guzy do przeszczepu o nietypowej histologii SCLC).**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic pożywkę 10% FBS, dodac 2,5 g/l glukozy, 10 mM HEPES i 1,0 mM pirogronianu sodu**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Zebrać komórki zawiesiny do probówki o pojemności 15 ml i delikatnie przemyć przylegające komórki PBS pozbawionym wapnia i magnezu (użyć 3-5 ml dla kolb T25 i 5-10 ml dla kolb T75). Nałożyć Accutase (1-2 ml na kolby T25, 2,5 ml na kolby T75), zapewniając pełne pokrycie warstwy komórek. Pozostawić komórki do inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut. Po inkubacji połączyć i odwirować zarówno zawiesinę, jak i przylegające komórki. Po odwirowaniu ostrożnie zawiesić osad komórek i przenieść zawiesinę komórek do nowych kolb zawierających świeżą pożywkę.**Split ratio** 1: 3 do 1: 4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**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.

Komórki NCI-H446 | 305049**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 zawieszonych, 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

**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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCI-H446 | 305049**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
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