

Células NCI-H146 | 300182

Informações gerais

Description	A linha celular NCI-H146 foi obtida por A.F. Gazdar e colaboradores em 1979 a partir do líquido pleural de um doente com cancro do pulmão de pequenas células. A amostra de medula óssea foi recolhida antes da terapia.
Organism	Humano
Tissue	Pulmão
Disease	Carcinoma de pequenas células
Metastatic site	Medula óssea
Synonyms	H146, H-146, NCIH146

Caraterísticas

Age	59 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Agregados em suspensão

Dados regulamentares

Citation	NCI-H146 (número de catálogo Cytion 300182)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1473

Dados biomoleculares

Células NCI-H146 | 300182

Receptors expressed	Recetor do fator de crescimento semelhante à insulina II (IGF II)
Protein expression	As células coram positivamente para vimentina e queratina, mas são negativas para a proteína triplete do neurofilamento.
Antigen expression	A linha expressa níveis elevados de quatro marcadores bioquímicos: enolase específica dos neurónios, isoenzima cerebral da creatina quinase, L-DOPA descarboxilase e imunorreactividade do tipo bombesina
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, Produto de frequência fenotípica = 0,0009
Tumorigenic	Forma tumores transplantáveis em ratinhos nus que histologicamente se assemelham a células tumorais da amostra de biopsia original
Products	As células produzem quantidades relativamente elevadas de ARNm c-myc, mas as sequências de ADN c-myc não são amplificadas. As células não expressam a vasopressina, a oxitocina ou o péptido libertador de gastrina.
Ploidy status	Aneuploide
MSI-status	Estável (MSS)
Karyotype	Trata-se de uma linha celular humana quase triploide. O número modal de cromossomas é 68, mas também ocorrem frequentemente células com 66, 70 e 71 cromossomas. Os cromossomas x estavam emparelhados e não foi detectado qualquer cromossoma Y em preparações coradas por QM.

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820700a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS inativado pelo calor
Subculturing	As células devem ser subcultivadas através da transferência de parte da suspensão para novos frascos de cultura de células previamente cheios com meio novo. Em alternativa, os aglomerados podem ser recolhidos por centrifugação e ressuspensos em meio novo.
Seeding density	1 a 2×10^5 células/ml
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana
Post-Thaw Recovery	Após a descongelação, deixar as células recuperarem do processo de congelação durante, pelo menos, 24 a 48 horas.

Células NCI-H146 | 300182**Freeze medium**

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

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

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Alelos 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