

Células NCI-H446 | 305049**Informações gerais**

Description Esta linha celular foi criada em 1982 por D. Carney, A.F. Gazdar e colaboradores a partir do líquido pleural de um doente com cancro do pulmão de pequenas células. A morfologia original do tumor não era característica do cancro do pulmão de pequenas células. A linha celular é uma variante do cancro do pulmão de pequenas células em termos bioquímicos e morfológicos e exprime a enolase específica dos neurónios, bem como a isoenzima cerebral da creatina quinase. Não foi detectada na linha celular qualquer expressão de L-DOPA descarboxilase, bombesina, vasopressina, oxitocina ou péptido libertador de gastrina. Esta linha celular apresenta um grau 20 vezes mais elevado de amplificação do ADN c-myc e um grau 15 vezes mais elevado de ARN c-myc. A linha celular foi originalmente propagada em meio RPMI 1640 sem soro suplementado com 10 nM de hidrocortisona, 5 microgramas/mL de insulina, 10 microgramas/mL de transferrina, 10 nM de 17-beta-estradiol e 30 nM de selenito de sódio. As células podem formar tumores transplantáveis com histologia não típica de cancro do pulmão de pequenas células.

Organism Humano

Tissue Pulmão

Disease Carcinoma pulmonar de pequenas células

Metastatic site Derrame pleural

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

Caraterísticas

Age 61 anos

Gender Masculino

Ethnicity Europeu

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation NCI-H446 (número de catálogo Cytion 305049)

Biosafety level 1

Células NCI-H446 | 305049**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1562**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em ratinhos nus (As células formam tumores transplantáveis com histologia não típica de CPPC).**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS, adicionar 2,5 g/L de glucose, 10 mM de HEPES e 1,0 mM de piruvato de sódio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Reunir as células em suspensão num tubo de 15 ml e lavar suavemente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (utilizar 3-5 ml para os frascos T25 e 5-10 ml para os frascos T75). Aplicar Accutase (1-2 ml para os frascos T25, 2,5 ml para os frascos T75), assegurando a cobertura total da camada celular. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 10 minutos. Após a incubação, combinar e centrifugar tanto a suspensão como as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspender cuidadosamente o pellet de células e transferir a suspensão de células para novos frascos com meio fresco.**Split ratio** 1:3 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**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.

Células NCI-H446 | 305049

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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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 $300 \times g$ 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

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.

Células NCI-H446 | 305049

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 / Perfil genético / HLA

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.

Perfil 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: 13h15
FGA: 22
D1S1656: 14,16,3
D6S1043: 11
D2S1338: 18,2
D12S391: 17,18
D19S433: 13,14