

Celule NCI-H446 | 305049

Informații generale

Description Această linie celulară a fost stabilită în 1982 de către D. Carney, A.F. Gazdar și asociații lor din lichidul pleural al unui pacient cu cancer pulmonar cu celule mici. Morfologia inițială a tumorii nu era caracteristică cancerului pulmonar cu celule mici. Linia celulară este o variantă a cancerului pulmonar cu celule mici în ceea ce privește biochimia și morfologia și exprimă enolază specifică neuronilor, precum și izoenzima cerebrală a creatin kinazei. Linia celulară nu a detectat L-DOPA decarboxilază, bombesină, vasopresină, oxitocină sau peptidă eliberatoare de gastrină. Această linie celulară prezintă un grad de 20 de ori mai mare de amplificare a ADN-ului c-myc și un grad de 15 ori mai mare de ARN c-myc. Linia celulară a fost inițial propagată în mediu RPMI 1640 fără ser, suplimentat cu 10 nM de hidrocortizon, 5 micrograme/mL de insulină, 10 micrograme/mL de transferină, 10 nM de 17-beta-estradiol și 30 nM de selenit de sodiu. Celulele pot forma tumori transplantabile cu histologie non-tipică de cancer pulmonar cu celule mici.

Organism Om

Tissue Plămân

Disease Carcinom pulmonar cu celule mici

Metastatic site Efuzie pleurală

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

Caracteristici

Age 61 de ani

Gender Masculin

Ethnicity Europeană

Morphology Asemănătoare epitelului

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation NCI-H446 (număr de catalog Cytion 305049)

Biosafety level 1

Celule NCI-H446 | 305049

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1562

Date biomoleculare

Tumorigenic Da, la șoareci nude (celulele formează tumori transplantabile cu histologie SCLC atipică).

Manipulare

Culture Medium RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO₃ (număr articol Cytion 820700a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS, adăugați 2,5 g/L glucoză, 10 mM HEPES și 1,0 mM piruvat de sodiu**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Se adună celulele în suspensie într-un tub de 15 ml și se spală ușor celulele aderente cu PBS lipsit de calciu și magneziu (se utilizează 3-5 ml pentru flacoane T25 și 5-10 ml pentru flacoane T75). Se aplică Accutase (1-2 ml pentru flacoane T25, 2,5 ml pentru flacoane T75) asigurând acoperirea completă a stratului celular. Se lasă celulele să se incubeze la temperatura camerei timp de 10 minute. După incubare, se combină și se centrifughează atât suspensia, cât și celulele aderente. După centrifugare, resuspendați cu atenție peletul celular și transferați suspensia celulară în flacoane noi care conțin mediu proaspăt.**Split ratio** 1:3 – 1:4**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule NCI-H446 | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NCI-H446 | 305049

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul 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