

NCI-H146-celler | 300182

Allmän information

Description	Cellinjen NCI-H146 togs fram av A.F. Gazdar och medarbetare 1979 från pleuravätska från en patient med småcellig lungcancer. Benmärgsprovet togs före behandlingen.
Organism	Människan
Tissue	Lungan
Disease	Småcellig karcinom
Metastatic site	Benmärg
Synonyms	H146, H-146, NCIH146

Egenskaper

Age	59 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitelliknande
Growth properties	Aggregat i suspension

Lagstadgade uppgifter

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

Biomolekylära data

NCI-H146-celler | 300182

Receptors expressed	Receptor för insulinliknande tillväxtfaktor II (IGF II)
Protein expression	Cellerna färgas positivt för vimentin och keratin, men är negativa för neurofilament triplet protein.
Antigen expression	Linjen uttrycker förhöjda nivåer av fyra biokemiska markörer: neuronspecifikt enolas, hjärnisoenzym av kreatinkinas, L-DOPA-dekarboxylas och bombesinliknande immunoreaktivitet
Isoenzymes	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, fenotypfrekvens produkt = 0,0009
Tumorigenic	Bildar transplanterbara tumörer i nakenmöss som histologiskt liknar tumörceller från det ursprungliga biopsiprovet
Products	Cellerna producerar relativt stora mängder c-myc mRNA, men c-myc DNA-sekvenser amplifieras inte. Cellerna uttrycker inte vasopressin, oxytocin eller gastrinfrisättande peptid.
Ploidy status	Aneuploid
MSI-status	Stabilt (MSS)
Karyotype	Detta är en nära triploid human cellinje. Det modala kromosomantalet är 68, men celler med 66, 70 och 71 kromosomer förekommer också ofta. X-kromosomerna var parade och ingen Y-kromosom kunde påvisas i QM-färgade preparat.
Hantering	
Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% värmeinaktiverad FBS
Subculturing	Cellerna bör subkultiveras genom att en del av suspensionen överförs till nya cellodlingskolvar som fyllts med nytt medium. Alternativt kan klustren samlas in genom centrifugering och resuspenderas i färskt medium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:2 till 1:6 rekommenderas
Seeding density	1 till 2×10^5 celler/ml
Fluid renewal	2 till 3 gånger per vecka

NCI-H146-celler | 300182

Post-Thaw Recovery

Låt cellerna återhämta sig från frysprocessen i minst 24 till 48 timmar efter upptining.

Freeze medium

Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

NCI-H146-celler | 300182

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasma diagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x,x

HLA-alleler

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