

NCI-H446-celler | 305049

Allmän information

Description Denna cellinje etablerades 1982 av D. Carney, A.F. Gazdar och medarbetare från pleuravätska från en patient med småcellig lungcancer. Den ursprungliga tumörmorfologin var inte karakteristisk för småcellig lungcancer. Cellinjen är en variant av småcellig lungcancer i biokemi och morfologi, och uttrycker neuronspecifikt enolas samt hjärnisoenzymet av kreatinkinas. Inget L-DOPA-dekarboxylas, bombesin, vasopressin, oxytocin eller gastrinfrisättande peptid har detekterats i cellinjen. Denna cellinje uppvisar en 20-faldigt högre grad av c-myc DNA-amplifiering och en 15-faldigt högre grad av c-myc RNA. Cellinjen förökades ursprungligen i serumfritt RPMI 1640-medium kompletterat med 10 nM hydrokortison, 5 mikrogram/ml insulin, 10 mikrogram/ml transferrin, 10 nM 17-beta-östradiol och 30 nM natriumselenit. Transplanterbara tumörer med icke-typisk småcellig lungcancerhistologi kan bildas av cellerna.

Organism Människan

Tissue Lungan

Disease Småcellscarcinom i lungan

Metastatic site Pleurautgjutning

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

Egenskaper

Age 61 år

Gender Man

Ethnicity Europeiska

Morphology Epitelliknande

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation NCI-H446 (Cytion katalognummer 305049)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCI-H446-celler | 305049

CellosaurusAccession CVCL_1562

Biomolekylära data

Tumorigenic Ja, i nakna möss (cellerna bildar transplanterbara tumörer med icke-typisk SCLC-histologi).

Hantering

Culture Medium RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera med 10% FBS, tillsätt 2,5 g/L glukos, 10 mM HEPES och 1,0 mM natriumpyruvat**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Samla de suspenderade cellerna i ett 15 ml rör och tvätta försiktigt de vidhäftande cellerna med PBS utan kalcium och magnesium (använd 3-5 ml för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar). Applicera Accutase (1-2 ml för T25-kolvar, 2,5 ml för T75-kolvar) och se till att cellskiktet täcks helt. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 10 minuter. Efter inkubationen, kombinera och centrifugera både suspensionen och de vidhäftande cellerna. Efter centrifugering, resuspendera försiktigt cellpelleten och överför cellsuspensionen till nya kolvar med nytt medium.**Split ratio** 1: 3 till 1: 4**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**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.

NCI-H446-celler | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst 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-kulturkanor; 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

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NCI-H446-celler | 305049

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 mykoplasmediagnostik.

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

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