

**Bunky NCI-H146 | 300182****Všeobecné informácie**

<b>Description</b>	Bunkovú líniu NCI-H146 odvodili A. F. Gazdar a jeho spolupracovníci v roku 1979 z pleurálnej tekutiny pacienta s malobunkovým karcinómom pľúc. Vzorka kostnej drene bola odobratá pred liečbou.
<b>Organism</b>	Ľudské
<b>Tissue</b>	Pľúca
<b>Disease</b>	Malobunkový karcinóm
<b>Metastatic site</b>	Kostná dreň
<b>Synonyms</b>	H146, H-146, NCIH146

**Charakteristika**

<b>Age</b>	59 rokov
<b>Gender</b>	Muži
<b>Ethnicity</b>	Kaukazský
<b>Morphology</b>	Epitelu podobné
<b>Growth properties</b>	Agregáty v suspenzii

**Regulačné údaje**

<b>Citation</b>	NCI-H146 (katalógové číslo Cytion 300182)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1473

**Biomolekulárne údaje**

**Bunky NCI-H146 | 300182**

<b>Receptors expressed</b>	Receptor pre inzulínu podobný rastový faktor II (IGF II)
<b>Protein expression</b>	Bunky sa pozitívne farbia na vimentín a keratín, ale sú negatívne na neurofilamentový tripletový proteín.
<b>Antigen expression</b>	Línia exprimuje zvýšené hladiny štyroch biochemických markerov: neurón špecifickej enolázy, mozgového izoenzymu kreatínkinázy, dekarboxylázy L-DOPA a imunoreaktivity podobnej bombesínu
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, produkt frekvencie fenotypu = 0,0009
<b>Tumorigenic</b>	Vytvára transplantovateľné nádory u nahých myší, ktoré sa histologicky podobajú nádorovým bunkám z pôvodnej bioptickej vzorky
<b>Products</b>	Bunky produkujú pomerne veľké množstvo c-myc mRNA, ale c-myc DNA sekvencie sa neamplifikujú. Bunky neexprimujú vazopresín, oxytocín ani peptid uvoľňujúci gastrín.
<b>Ploidy status</b>	Aneuploidné
<b>MSI-status</b>	Stabilný (MSS)
<b>Karyotype</b>	Ide o takmer triploidnú ľudskú bunkovú líniu. Modálny počet chromozómov je 68, ale často sa vyskytovali aj bunky so 66, 70 a 71 chromozómami. Chromozómy x boli párové a v preparátoch farbených QM sa nezistil žiadny chromozóm Y.

**Spracovanie**

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10 % tepelne inaktivovaného FBS
<b>Subculturing</b>	Bunky by sa mali subkultúrovať prenesením časti suspenzie do čerstvých nových baniek na kultiváciu buniek vopred naplnených čerstvým médiom. Prípadne sa zhluky môžu zozbierať centrifugáciou a resuspendovať v čerstvom médiu.
<b>Seeding density</b>	1 až 2 x 10 <sup>5</sup> buniek/ml
<b>Fluid renewal</b>	2 až 3-krát týždenne
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrazení nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazovania aspoň 24 až 48 hodín.

## Bunky NCI-H146 | 300182

### Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

### Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Žiadne

### Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## Bunky NCI-H146 | 300182

### Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

### Alely 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