

Bunky NCI-H446 | 305049

Všeobecné informácie

Description Túto bunkovú líniu vytvorili v roku 1982 D. Carney, A.F. Gazdar a spolupracovníci z pleurálnej tekutiny pacienta s malobunkovým karcinómom pľúc. Pôvodná morfológia nádoru nebola charakteristická pre malobunkový karcinóm pľúc. Bunková línia je biochemicky a morfológicky variantom malobunkového karcinómu pľúc a exprimuje neuronálne špecifickú enolázu, ako aj mozgový izoenzým kreatínkinázy. V bunkovej línii sa nezistil žiadny L-DOPA dekarboxyláza, bombesín, vazopresín, oxytocín ani peptid uvoľňujúci gastrín. Táto bunková línia vykazuje 20-násobne vyšší stupeň amplifikácie c-myc DNA a 15-násobne vyšší stupeň c-myc RNA. Bunková línia bola pôvodne množená v médiu RPMI 1640 bez séra doplnenom o 10 nM hydrokortizónu, 5 mikrogramov/ml inzulínu, 10 mikrogramov/ml transferínu, 10 nM 17-beta-estradiolu a 30 nM seleničitanu sodného. Bunky môžu tvoriť transplantovateľné nádory s histológiou netypického malobunkového karcinómu pľúc.

Organism Ľudské

Tissue Pľúca

Disease Malobunkový karcinóm pľúc

Metastatic site Pleurálna efúzia

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

Charakteristika

Age 61 rokov

Gender Muži

Ethnicity Európska

Morphology Epitelom podobné

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation NCI-H446 (katalógové číslo Cytion 305049)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Bunky NCI-H446 | 305049

CellosaurusAccession CVCL_1562

Biomolekulárne údaje**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach (bunky tvoria transplantovateľné nádory s netypickou histológiou SCLC).**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS, pridajte 2,5 g/l glukózy, 10 mM HEPES a 1,0 mM pyruvát sodný**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Zhromaždíte suspenzné bunky do 15 ml skúmavky a jemne premyte prilnuté bunky PBS bez vápnika a horčíka (použite 3-5 ml pre banky T25 a 5-10 ml pre banky T75). Aplikujte Accutase (1 - 2 ml pre banky T25, 2,5 ml pre banky T75), aby ste zabezpečili úplné pokrytie bunkovej vrstvy. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 10 minút. Po inkubácii spojte a odstredte suspenziu aj adherované bunky. Po odstredení opatrne resuspendujte bunkovú peletu a preneste bunkovú suspenziu do nových baniek obsahujúcich čerstvé médium.**Split ratio** 1:3 až 1:4**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**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.

Bunky NCI-H446 | 305049

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 % 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.

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.

Bunky NCI-H446 | 305049

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.

STR profile

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