

Celice NCI-H446 | 305049

Splošne informacije

Description To celično linijo so leta 1982 D. Carney, A. F. Gazdar in sodelavci ustvarili iz plevralne tekočine bolnika z drobnoceličnim rakom pljuč. Prvotna morfologija tumorja ni bila značilna za drobnocelični rak pljuč. Celična linija je po biokemiji in morfologiji varianta drobnoceličnega pljučnega raka in izraža nevronske specifične enolaze ter možganski izoencim kreatin kinaze. V celični liniji niso odkrili L-DOPA dekarboksilaze, bombesina, vazopresina, oksitocina ali peptida, ki sprošča gastrin. Ta celična linija ima 20-krat višjo stopnjo amplifikacije DNK c-myc in 15-krat višjo stopnjo RNK c-myc. Celična linija je bila prvotno razmnožena v gojišču RPMI 1640 brez seruma, dopolnjenem z 10 nM hidrokortizona, 5 mikrogramov/ml inzulina, 10 mikrogramov/ml transferina, 10 nM 17-beta-estradiola in 30 nM natrijevega selenita. Celice lahko tvorijo presadljive tumorje z netipičnim drobnoceličnim pljučnim rakom.

Organism Človek

Tissue Pljuča

Disease Drobnocelični karcinom pljuč

Metastatic site Plevralni izliv

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

Značilnosti

Age 61 let

Gender Moški

Ethnicity Evropski

Morphology Epitelijsko podobni

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation NCI-H446 (katalogska številka Cytion 305049)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Celice NCI-H446 | 305049

CellosaurusAccession CVCL_1562

Biomolekularni podatki

Tumorigenic Da, pri golih miših (celice tvorijo tumorje za presaditev z netipično histologijo SCLC).

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišču dodajte 10 % FBS, 2,5 g/l glukoze, 10 mM HEPES in 1,0 mM natrijevega piruvata**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** V 15 ml epruveti zberite suspenzijske celice in jih nežno sperite s PBS brez kalcija in magnezija (uporabite 3-5 ml za bučke T25 in 5-10 ml za bučke T75). Uporabite Accutase (1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75), tako da popolnoma prekrijete plast celic. Počakajte, da se celice inkubirajo pri sobni temperaturi 10 minut. Po inkubaciji združite in centrifugirajte suspenzijo in adherentne celice. Po centrifugiranju previdno ponovno suspendirajte celično peleton in celično suspenzijo prenesite v nove bučke s svežim gojiščem.**Split ratio** 1:3 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

Celice NCI-H446 | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCI-H446 | 305049

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Profil 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