

## Клітини NCI-H146 | 300182

## Загальна інформація

<b>Description</b>	Клітинна лінія NCI-H146 була отримана А.Ф. Газдаром і співробітниками в 1979 році з плевральної рідини пацієнта з недрібноклітинним раком легені. Зразок кісткового мозку був взятий до початку терапії.
<b>Organism</b>	Людина
<b>Tissue</b>	Легені
<b>Disease</b>	Дрібноклітинна карцинома
<b>Metastatic site</b>	Кістковий мозок
<b>Synonyms</b>	H146, H-146, NCIH146

## Характеристики

<b>Age</b>	59 років
<b>Gender</b>	Чоловік
<b>Ethnicity</b>	Кавказець
<b>Morphology</b>	Епітеліальноподібні
<b>Growth properties</b>	Агрегати в підвішеному стані

## Нормативні дані

<b>Citation</b>	NCI-H146 (номер за каталогом Cytion 300182)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1473

## Біомолекулярні дані

## Клітини NCI-H146 | 300182

<b>Receptors expressed</b>	Рецептор інсуліноподібного фактора росту II (IGF II)
<b>Protein expression</b>	Клітини позитивно забарвлюються на віментин і кератин, але негативно на триплетний білок нейрофіламентів.
<b>Antigen expression</b>	Лінія експресує підвищені рівні чотирьох біохімічних маркерів: нейрон-специфічної енолази, мозкового ізоферменту креатинкінази, L-DOPA декарбоксилази та бомбезиноподібної імунореактивності
<b>Isoenzymes</b>	G6PD, B, PGM1, 1-2, PGM3, 1-2, ES-D, 1, Me-2, 2, AK-1, 1, GLO-1, 1, Phenotype Frequency Product = 0.0009
<b>Tumorigenic</b>	Утворює трансплантовані пухлини у голих мишей, які гістологічно нагадують пухлинні клітини з оригінального біопсійного зразка
<b>Products</b>	Клітини продукують відносно велику кількість мРНК с-тус, але послідовності ДНК с-тус не ампліфікуються. Клітини не експресують вазопресин, окситоцин або пептид, що вивільняє гастрин.
<b>Ploidy status</b>	Анеуплоїдний
<b>MSI-status</b>	Стабільний (MSS)
<b>Karyotype</b>	Це майже триплоїдна лінія клітин людини. Модальне число хромосом - 68, але часто зустрічаються клітини з 66, 70 і 71 хромосомами. X-хромосоми були парними, а Y-хромосома не була виявлена в препаратах, забарвлених QM.

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO <sub>3</sub> (номер за каталожним номером 820700a)
<b>Supplements</b>	Додайте до середовища 10% термоінактивованого FBS
<b>Subculturing</b>	Клітини слід субкультивувати шляхом перенесення частини суспензії в нові колби для культури клітин, попередньо заповнені свіжим середовищем. Крім того, кластери можна зібрати центрифугуванням і ресуспендувати у свіжому середовищі.
<b>Seeding density</b>	1 до 2 x 10 <sup>5</sup> клітин/мл
<b>Fluid renewal</b>	2-3 рази на тиждень
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Після розморожування дайте клітинам відновитися після процесу заморожування принаймні 24-48 годин.

## Клітини NCI-H146 | 300182

### Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

## Клітини NCI-H146 | 300182

**Freezing Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

**Shipping Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

**Storage Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

**Контроль якості / Генетичний профіль / HLA****Sterility**

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

**HLA алелі**

**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