

Клітини NCI-H446 | 305049

Загальна інформація

Description Ця клітинна лінія була створена в 1982 році D. Carney, A.F. Gazdar і співробітниками з плевральної рідини пацієнта з недрібноклітинним раком легені. Початкова морфологія пухлини не була характерною для недрібноклітинного раку легенів. Клітинна лінія є варіантом недрібноклітинного раку легенів за біохімічними та морфологічними ознаками і експресує нейрон-специфічну енолазу, а також мозковий ізофермент креатинкінази. У клітинах цієї лінії не виявлено декарбоксилази L-DOPA, бомбезину, вазопресину, окситоцину або гастрин-релізінг-пептиду. Ця клітинна лінія демонструє у 20 разів вищий ступінь ампліфікації ДНК c-тус та у 15 разів вищий ступінь ампліфікації РНК c-тус. Клітинну лінію спочатку розмножували в безсироватковому середовищі RPMI 1640, доповненому 10 нМ гідрокортизону, 5 мкг/мл інсуліну, 10 мкг/мл трансферину, 10 нМ 17-бета-естрадіолу та 30 нМ селеніту натрію. Клітини можуть утворювати трансплантовані пухлини з нетиповою гістологією дрібноклітинного раку легенів.

Organism Людина

Tissue Легені

Disease Дрібноклітинна карцинома легень

Metastatic site Плевральний випіт

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

Характеристики

Age 61 рік

Gender Чоловік

Ethnicity Європейський

Morphology Епітеліальноподібні

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation NCI-H446 (номер за каталогом Cytion 305049)

Biosafety level 1

Клітини NCI-H446 | 305049

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1562

Біомолекулярні дані

Tumorigenic Так, у голих мишей (клітини утворюють трансплантовані пухлини з нетиповою гістологією СКЛК).

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)**Supplements** Поповніть середовище 10% FBS, додайте 2,5 г/л глюкози, 10 мМ HEPES та 1,0 мМ пірувату натрію**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Зберіть суспензію клітин у пробірку на 15 мл і обережно відмийте прилиплі клітини PBS, що не містить кальцію і магнію (використовуйте 3-5 мл для колб T25 і 5-10 мл для колб T75). Нанесіть аккутазу (1-2 мл для колб T25, 2,5 мл для колб T75), забезпечуючи повне покриття клітинного шару. Інкубуйте клітини при кімнатній температурі протягом 10 хвилин. Після інкубації об'єднайте і центрифугуйте суспензію і прилиплі клітини. Після центрифугування обережно ресуспендуйте клітинну гранулу і перенесіть клітинну суспензію в нові колби зі свіжим середовищем.**Split ratio** від 1:3 до 1:4**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини NCI-H446 | 305049**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°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°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. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній 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.

Клітини NCI-H446 | 305049

**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, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Профіль 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