

Cellules NCI-H446 | 305049

Renseignements généraux

Description Cette lignée cellulaire a été établie en 1982 par D. Carney, A.F. Gazdar et leurs collaborateurs à partir du liquide pleural d'un patient atteint d'un cancer du poumon à petites cellules. La morphologie initiale de la tumeur n'était pas caractéristique d'un cancer du poumon à petites cellules. Sur le plan biochimique et morphologique, cette lignée cellulaire constitue une variante du cancer du poumon à petites cellules; elle exprime l'énolase spécifique des neurones ainsi que l'isoenzyme cérébrale de la créatine kinase. Aucune trace de décarboxylase de la L-DOPA, de bombésine, de vasopressine, d'ocytocine ou de peptide libérant la gastrine n'a été détectée dans cette lignée cellulaire. Cette lignée cellulaire présente un degré d'amplification de l'ADN de c-myc 20 fois plus élevé et un degré d'ARN de c-myc 15 fois plus élevé. La lignée cellulaire a été initialement cultivée dans un milieu RPMI 1640 sans sérum, enrichi de 10 nM d'hydrocortisone, de 5 microgrammes/mL d'insuline, de 10 microgrammes/mL de transferrine, de 10 nM de 17-bêta-estradiol, et 30 nM de sélénite de sodium. Ces cellules permettent de former des tumeurs transplantables présentant une histologie atypique de cancer du poumon à petites cellules.

Organism Humain

Tissue Poumon

Disease Carcinome pulmonaire à petites cellules

Metastatic site Épanchement pleural

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

Caractéristiques

Age 61 ans

Gender Homme

Ethnicity européen

Morphology De type épithélial

Growth properties Adepté

Données réglementaires

Citation NCI-H446 (numéro de catalogue Cytion 305049)

Cellules NCI-H446 | 305049

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1562

Données biomoléculaires

Tumorigenic Oui, chez les souris nues (les cellules forment des tumeurs transplantables présentant une histologie atypique de la tumeur pulmonaire à petites cellules).

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO_3 (numéro d'article Cytion 820700a)**Supplements** Ajouter au milieu 10 % de FBS, 2,5 g/L de glucose, 10 mM d'HEPES et 1,0 mM de pyruvate de sodium**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Recueillez les cellules en suspension dans un tube de 15 ml et lavez délicatement les cellules adhérentes avec du PBS sans calcium ni magnésium (utilisez 3 à 5 ml pour les flacons T25 et 5 à 10 ml pour les flacons T75). Appliquez de l'Accutase (1 à 2 ml pour les flacons T25, 2,5 ml pour les flacons T75) en veillant à bien recouvrir toute la couche cellulaire. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 10 minutes. Après l'incubation, combinez la suspension et les cellules adhérentes, puis centrifugez le tout. Après la centrifugation, remettez soigneusement le culot cellulaire en suspension et transférez la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons contenant du milieu frais.**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules NCI-H446 | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150°C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78°C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196°C . L'entreposage à -80°C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules NCI-H446 | 305049

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.