

Células NCI-H446 | 305049**Informações gerais**

Description Essa linhagem celular foi estabelecida em 1982 por D. Carney, A.F. Gazdar e colaboradores a partir do líquido pleural de um paciente com câncer de pulmão de pequenas células. A morfologia original do tumor não era característica do câncer de pulmão de pequenas células. A linhagem celular é uma variante do câncer de pulmão de pequenas células em termos de bioquímica e morfologia, e expressa a enolase específica de neurônios, bem como a isoenzima cerebral da creatina quinase. Não foi detectada na linha celular a presença de L-DOPA descarboxilase, bombesina, vasopressina, oxitocina ou peptídeo liberador de gastrina. Essa linha celular apresenta um grau 20 vezes maior de amplificação do DNA do c-myc e um grau 15 vezes maior de RNA do c-myc. A linhagem celular foi originalmente propagada em meio RPMI 1640 sem soro, suplementado com 10 nM de hidrocortisona, 5 microgramas/mL de insulina, 10 microgramas/mL de transferrina, 10 nM de 17-beta-estradiol, e 30 nM de selenito de sódio. Essas células podem formar tumores transplantáveis com histologia atípica de câncer de pulmão de pequenas células.

Organism Humano

Tissue Pulmão

Disease Carcinoma de pequenas células do pulmão

Metastatic site Derrame pleural

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

Características

Age 61 anos

Gender Masculino

Ethnicity Europeu

Morphology De tipo epitelial

Growth properties Aderente

Dados regulatórios

Citation NCI-H446 (número de catálogo da Cytion 305049)

Biosafety level 1

Células NCI-H446 | 305049**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1562**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim, em camundongos nude (as células formam tumores transplantáveis com histologia atípica de SCLC).**Manuseio****Culture Medium** RPMI 1640, com 2,0 mM de glutamina estável e 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion: 820700a)**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS, 2,5 g/L de glicose, 10 mM de HEPES e 1,0 mM de piruvato de sódio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Recolha as células em suspensão em um tubo de 15 ml e lave delicadamente as células aderentes com PBS sem cálcio e magnésio (use 3 a 5 ml para frascos T25 e 5 a 10 ml para frascos T75). Aplique Accutase (1 a 2 ml para frascos T25, 2,5 ml para frascos T75), garantindo a cobertura total da camada celular. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 10 minutos. Após a incubação, combine e centrifugue tanto a suspensão quanto as células aderentes. Após a centrifugação, ressuspensa cuidadosamente o sedimento celular e transfira a suspensão celular para novos frascos contendo meio fresco.**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células NCI-H446 | 305049

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células NCI-H446 | 305049

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.