Product sheet

Клетки NCI-H460 | 305020

Обща информация

Description	NCI-H460, известен също като H460, е получен от пациент от мъжки пол с едроклетъчен белодробен карцином. Клетките NCI-H460 са адхерентни клетки, които растат два пъти по-бързо от клетките A549, като времето за удвояване е 33 часа в RPMI 1640, допълнен с 10% FBS. Те могат да образуват тумори както в in vitro, така и в in vivo модели, включително при голи мишки. Доказано е, че клетките NCI-H460 експресират mRNA p53 на високи нива, сравними с нормалната белодробна тъкан, като същевременно не показват груби структурни аномалии на ДНК. Те се оцветяват положително за кератин и виментин, но са отрицателни за неврофиламентен триплетен протеин. Изоензимният анализ показва, че HPRT е локализиран на повърхността на тези клетъчни линии на недребноклетъчен рак на белия дроб. Изоензимите AK-1, ES-D и Me-2 са експресирани на ниво 1, докато изоензимите G6PD и PGM1 и PGM3 са експресирани съответно на ниво B и 1-2. Клетките имат хипотриплоиден кариотип с модален брой хромозоми 57, вариращ от 53 до 65. Седем маркерни хромозоми са общи за всички клетки, включително der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Високите нива на експресия на p53 mRNA ги правят подходящ модел за изучаване на молекулярните механизми на недребноклетъчния рак на белия дроб.
Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Голямоклетъчен карцином на белия дроб
Metastatic site	Плеврален излив
Synonyms	NCI-H460, NCI.H460, H-460, NCIH460, NCI-HUT-460, NCI-460

Характеристики

Gender	Мъжки
Ethnicity	Европейски
Morphology	Епителиален
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	H-460 (каталожен номер 305020 на Cytion)
Biosafety level	1

Клетки NCI-H460 | 305020

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0459

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Да

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H460 | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H460 | 305020

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.