

Buňky NCI-H460 | 305020

Obecné informace

Description NCI-H460, známý také jako H460, byl získán od pacienta s velkobuněčným karcinomem plic. Buňky NCI-H460 jsou adherentní buňky, které rostou dvakrát rychleji než buňky A549 a jejich doba zdvojení je 33 hodin v RPMI 1640 doplněném 10 % FBS. Mohou vytvářet nádory v modelech in vitro i in vivo, včetně nahých myší. Bylo prokázáno, že buňky NCI-H460 exprimují mRNA p53 ve vysoké míře srovnatelné s normální plicní tkání, přičemž nevykazují žádné hrubé strukturální abnormality DNA. Pozitivně se barví na keratin a vimentin, ale jsou negativní na neurofilamentový tripletový protein. Izoenzymová analýza ukázala, že HPRT je lokalizován na povrchu těchto buněčných linií nemalobuněčného karcinomu plic. Izoenzymy AK-1, ES-D a Me-2 jsou exprimovány na úrovni 1, zatímco izoenzymy G6PD a PGM1 a PGM3 jsou exprimovány na úrovni B, resp. 1-2. Buňky mají hypotriploidní karyotyp s modálním počtem chromozomů 57, v rozmezí 53 až 65. Sedm markerových chromozomů je společných všem buňkám, včetně der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Jejich vysoké hladiny exprese mRNA p53 z nich činí vhodný model pro studium molekulárních mechanismů nemalobuněčného karcinomu plic.

Organism Člověk

Tissue Plíce

Disease Velkobuněčný karcinom plic

Metastatic site Pleurální výpotek

Synonyms NCI-H460, NCI.H460, H-460, NCIH460, NCI-HUT-460, NCI-460

Charakteristika

Gender Muži

Ethnicity Evropská

Morphology Epitelové

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation H-460 (katalogové číslo Cytion 305020)

Biosafety level 1

Buňky NCI-H460 | 305020

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0459

Biomolekulární data

Tumorigenic Ano

Zpracování

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplněte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio 1:2 až 1:4**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky NCI-H460 | 305020

Thawing and
Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation
Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing
Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCI-H460 | 305020**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,y

CSF1PO: 11,12

D13S317: 13

D16S539: 9

D5S818: 9,10

D7S820: 9,12

TH01: 9.3

TPOX: 8

vWA: 17

D3S1358: 15,18

D21S11: 30

D18S51: 13,15

Penta E: 5

Penta D: 11,13

D8S1179: 12

FGA: 21,23

D6S1043: 11,14

D2S1338: 17,25

D12S391: 21

D19S433: 14