

NCI-H460-celler | 305020

Generel information

Description NCI-H460, også kendt som H460, stammer fra en mandlig patient med storcellet lungekarinom. NCI-H460-celler er adhærente celler, der vokser dobbelt så hurtigt som A549-celler med en fordoblingstid på 33 timer i RPMI 1640 tilsat 10 % FBS. De kan danne tumorer i både in vitro- og in vivo-modeller, herunder nøgenmus. NCI-H460-celler har vist sig at udtrykke p53-mRNA i høje niveauer, der kan sammenlignes med normalt lungevæv, samtidig med at de ikke udviser nogen grove strukturelle DNA-abnormiteter. De farves positivt for keratin og vimentin, men er negative for neurofilament triplet protein. Isoenzymanalyse har vist, at HPRT er lokaliseret på overfladen af disse ikke-småcellede lungecancer celler. AK-1-, ES-D- og Me-2-isoenzymer udtrykkes på niveau 1, mens G6PD- og PGM1- og PGM3-isoenzymer udtrykkes på henholdsvis niveau B og 1-2. Cellerne har en hypotriploid karyotype med et modalt kromosomtallet på 57, der varierer fra 53 til 65. Syv markørkromosomer er fælles for alle celler, herunder der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Deres høje ekspressionsniveauer af p53-mRNA gør dem til en velegnet model til undersøgelse af de molekylære mekanismer i ikke-småcellet lungecancer.

Organism Menneske

Tissue Lunge

Disease Storcellet lungekarinom

Metastatic site Pleural effusion

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

Karakteristika

Gender Mand

Ethnicity Europæisk

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation H-460 (Cytion katalognummer 305020)

Biosafety level 1

NCI-H460-celler | 305020

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0459

Biomolekylære data

Tumorigenic Yees

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

NCI-H460-celler | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celsuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NCI-H460-celler | 305020

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.