Product sheet

NCI-H460 šūnas | 305020

Vispārīga informācija

Description	NCI-H460, pazīstams arī kā H460, tika iegūts no vīrieša pacienta ar lielšūnu plaušu karcinomu. NCI-H460 šūnas ir adherentas šūnas, kas aug divreiz ātrāk nekā A549 šūnas, un to dubultošanās laiks ir 33 stundas RPMI 1640, kas papildināts ar 10 % FBS. Tās var veidot audzējus gan in vitro, gan in vivo modeļos, tostarp nude pelēm. Ir pierādīts, ka NCI-H460 šūnas ekspresē p53 mRNS augstā līmenī, kas ir salīdzināms ar normālu plaušu audu līmeni, bet tām nav nekādu rupju DNS struktūras anomāliju. Tās pozitīvi krāsojas uz keratīna un vimentīna, bet ir negatīvas uz neirofilamentu tripleta proteīna. Izoenzīmu analīze ir parādījusi, ka HPRT ir lokalizēts uz šo plaušu vēža šūnu līniju, kas nav mazo šūnu vēža līnijas, virsmas. AK-1, ES-D un Me-2 izoenzīmi ir izteikti 1. līmenī, bet G6PD un PGM1 un PGM3 izoenzīmi ir izteikti attiecīgi B un 1-2 līmenī. Šīm šūnām ir hipotriploīds kariotips ar 57 hromosomu skaitu, kas svārstās no 53 līdz 65 hromosomām. Septiņas marķieru hromosomas ir kopīgas visām šūnām, tostarp der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). To augstais p53 mRNS ekspresijas līmenis padara tās par piemērotu modeli, lai pētītu nesmalikocelulārā plaušu vēža molekulāros mehānismus.
Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Disease	Plaušu lielšūnu karcinoma
Metastatic site	Pleiras izsvīdums
Synonyms	NCI-H460, NCI.H460, H-460, NCIH460, NCI-HUT-460, NCI-460, NCI-460

Raksturojums

Gender	Vīrieši
Ethnicity	Eiropas
Morphology	Epitēlija
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	H-460 (Cytion kataloga numurs 305020)
Biosafety level	1

NCI-H460 šūnas | 305020

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0459

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Jā

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

NCI-H460 šūnas | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.

2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.

3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.

4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.

5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.

6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.

7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.

8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCI-H460 šūnas | 305020

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.