

NCI-H460-cellen | 305020

Algemene informatie

Description NCI-H460, ook bekend als H460, is afkomstig van een mannelijke patiënt met grootcellig longcarcinoom. NCI-H460 cellen zijn adherente cellen die twee keer zo snel groeien als de A549 cellen met een verdubbelingstijd van 33 uur in RPMI 1640 aangevuld met 10% FBS. Ze kunnen tumoren vormen in zowel in vitro als in vivo modellen, waaronder nude muizen. Van NCI-H460 cellen is aangetoond dat ze p53 mRNA tot expressie brengen op hoge niveaus, vergelijkbaar met normaal longweefsel, terwijl ze geen grove structurele DNA-afwijkingen vertonen. Ze zijn positief gekleurd voor keratine en vimentine, maar negatief voor neurofilament triplet proteïne. Isoenzymanalyse heeft aangetoond dat HPRT gelokaliseerd is op het oppervlak van deze niet-kleincellige longkanker cellijnen. AK-1, ES-D en Me-2 isoenzymen komen tot expressie op niveau 1, terwijl G6PD en PGM1 en PGM3 isoenzymen tot expressie komen op niveau B en 1-2, respectievelijk. De cellen hebben een hypotriploïd karyotype met een modaal chromosoomnummer van 57, variërend van 53 tot 65. Er zijn zeven markerchromosomen gemeenschappelijk. Zeven markerchromosomen zijn gemeenschappelijk voor alle cellen, waaronder der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Hun hoge expressieniveaus van p53 mRNA maken ze een geschikt model voor het bestuderen van de moleculaire mechanismen van niet-kleincellige longkanker.

Organism Mens

Tissue Long

Disease Long grootcellig carcinoom

Metastatic site Pleurale effusie

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

Kenmerken

Gender Mannelijk

Ethnicity Europese

Morphology Epitheel

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation H-460 (Cytion catalogusnummer 305020)

Biosafety level 1

NCI-H460-cellen | 305020

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0459

Biomoleculaire gegevens

Tumorigenic Ja

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio 1:2 tot 1:4**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

NCI-H460-cellen | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NCI-H460-cellen | 305020

**Shipping
Conditions**

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA**Sterility**

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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