

NCI-H460-celler | 305020

Generell informasjon

Description NCI-H460, også kjent som H460, stammer fra en mannlig pasient med storcellet lungekarsinom. NCI-H460-celler er adherente celler som vokser dobbelt så raskt som A549-celler, med en fordoblingstid på 33 timer i RPMI 1640 tilsatt 10 % FBS. De kan danne svulster i både in vitro- og in vivo-modeller, inkludert nakenmus. NCI-H460-celler har vist seg å uttrykke p53-mRNA på et høyt nivå som kan sammenlignes med normalt lungevev, samtidig som de ikke viser noen grove strukturelle DNA-abnormaliteter. De farges positivt for keratin og vimentin, men er negative for nevrofilamenttripletprotein. Isoenzym-analyser har vist at HPRT er lokalisert på overflaten av disse ikke-småcellede lungekreftcellerlinjene. AK-1-, ES-D- og Me-2-isoenzymene uttrykkes på nivå 1, mens G6PD- og PGM1- og PGM3-isoenzymene uttrykkes på henholdsvis nivå B og 1-2. Cellene har en hypotriploid karyotype med et modalt kromosomnummer på 57, med en variasjon fra 53 til 65. Sju markørkromosomer er felles for alle cellene, deriblant der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). De høye uttrykksnivåene av p53-mRNA gjør dem til en egnet modell for å studere de molekylære mekanismene ved ikke-småcellet lungekreft.

Organism Menneskelig

Tissue Lunge

Disease Storcellet lungekarsinom

Metastatic site Pleuraeffusjon

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

Kjennetegn

Gender Mann

Ethnicity Europeisk

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation H-460 (Cytion-katalognummer 305020)

Biosafety level 1

NCI-H460-celler | 305020

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0459

Biomolekylære data

Tumorigenic Ja

Håndtering

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

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio 1:2 til 1:4**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

NCI-H460-celler | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør celleduspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H460-celler | 305020

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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