

Komórki NCI-H460 | 305020

Informacje ogólne

Description	Komórki NCI-H460, znane również jako H460, pochodzą od mężczyzny z wielkokomórkowym rakiem płuc. Komórki NCI-H460 są komórkami przylegającymi, rosnącymi dwa razy szybciej niż komórki A549 z czasem podwojenia wynoszącym 33 godziny w RPMI 1640 uzupełnionym 10% FBS. Mogą one tworzyć guzy zarówno w modelach in vitro, jak i in vivo, w tym u nagich myszy. Wykazano, że komórki NCI-H460 wykazują ekspresję mRNA p53 na wysokich poziomach porównywalnych do normalnej tkanki płucnej, nie wykazując jednocześnie rażących nieprawidłowości strukturalnych DNA. Pozytywnie wybarwiają się na keratynę i wimentynę, ale są ujemne dla białka tripletowego neurofilamentu. Analiza izoenzymów wykazała, że HPRT jest zlokalizowana na powierzchni tych linii komórek niedrobnokomórkowego raka płuc. Izoenzymy AK-1, ES-D i Me-2 ulegają ekspresji na poziomie 1, podczas gdy izoenzymy G6PD oraz PGM1 i PGM3 ulegają ekspresji odpowiednio na poziomie B i 1-2. Komórki mają kariotyp hipotriploidalny z modalną liczbą chromosomów wynoszącą 57, w zakresie od 53 do 65. Siedem chromosomów markerowych jest wspólnych dla wszystkich komórek, w tym der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Wysoki poziom ekspresji mRNA p53 czyni je odpowiednim modelem do badania molekularnych mechanizmów niedrobnokomórkowego raka płuc.
Organism	Człowiek
Tissue	Płuco
Disease	Rak wielkokomórkowy płuca
Metastatic site	Wysięk opłucnowy
Synonyms	NCI-H460, NCI.H460, H-460, NCIH460, NCI-HUT-460, NCI-460

Charakterystyka

Gender	Męczyzna
Ethnicity	Europejski
Morphology	Nabłonek
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	H-460 (numer katalogowy Cytion 305020)
Biosafety level	1

Komórki NCI-H460 | 305020

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0459

Dane biomolekularne

Tumorigenic Tak

Obsługa

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki NCI-H460 | 305020

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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