

Células NCI-H460 | 305020

Informações gerais

Description A NCI-H460, também conhecida como H460, foi derivada de um doente do sexo masculino com carcinoma do pulmão de grandes células. As células NCI-H460 são células aderentes que crescem duas vezes mais depressa do que as células A549, com um tempo de duplicação de 33 horas em RPMI 1640 suplementado com 10% de FBS. Podem formar tumores tanto em modelos in vitro como in vivo, incluindo ratinhos nus. Foi demonstrado que as células NCI-H460 expressam o ARNm do p53 a níveis elevados, comparáveis aos do tecido pulmonar normal, não apresentando anomalias estruturais grosseiras do ADN. Coram positivamente para queratina e vimentina, mas são negativas para a proteína triplete do neurofilamento. A análise isoenzimática demonstrou que a HPRT está localizada na superfície destas linhas celulares de cancro do pulmão de células não pequenas. As isoenzimas AK-1, ES-D e Me-2 são expressas no nível 1, enquanto a G6PD e as isoenzimas PGM1 e PGM3 são expressas no nível B e 1-2, respetivamente. As células têm um cariótipo hipotriplóide com um número cromossómico modal de 57, variando entre 53 e 65. Sete cromossomas marcadores são comuns a todas as células, incluindo der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Os seus elevados níveis de expressão do mRNA do p53 tornam-nas um modelo adequado para o estudo dos mecanismos moleculares do cancro do pulmão de células não pequenas.

Organism Humano

Tissue Pulmão

Disease Carcinoma pulmonar de grandes células

Metastatic site Derrame pleural

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

Caraterísticas

Gender Masculino

Ethnicity Europeu

Morphology Epitelial

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation H-460 (número de catálogo Cytion 305020)

Biosafety level 1

Células NCI-H460 | 305020**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0459**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células NCI-H460 | 305020**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

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

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Perfil STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 13
D16S539: 9
D5S818: 9,1
D7S820: 9,12
TH01: 09. Mrz
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