

Bunky NCI-H460 | 305020

Všeobecné informácie

Description NCI-H460, známy aj ako H460, bol odvodený od mužského pacienta s veľkobunkovým karcinómom pľúc. Bunky NCI-H460 sú adherentné bunky, ktoré rastú dvakrát rýchlejšie ako bunky A549 a zdvojnásobujú sa 33 hodín v RPMI 1640 doplnenom 10 % FBS. Môžu vytvárať nádory v modeloch in vitro aj in vivo vrátane nahých myší. Bolo preukázané, že bunky NCI-H460 exprimujú mRNA p53 na vysokej úrovni porovnateľnej s normálnym pľúcnym tkanivom, pričom nevykazujú žiadne hrubé štrukturálne abnormality DNA. Pozitívne sa farbja na keratín a vimentín, ale sú negatívne na neurofilamentový tripletový proteín. Izoenzýmová analýza ukázala, že HPRT je lokalizovaný na povrchu týchto bunkových línií nemalobunkového karcinómu pľúc. Izoenzýmy AK-1, ES-D a Me-2 sú exprimované na úrovni 1, zatiaľ čo izoenzýmy G6PD a PGM1 a PGM3 sú exprimované na úrovni B, resp. 1 - 2. Bunky majú hypotriploidný karyotyp s modálnym počtom chromozómov 57, v rozmedzí od 53 do 65. Sedem markerových chromozómov je spoločných pre všetky bunky, vrátane der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Ich vysoké hladiny expsie mRNA p53 z nich robia vhodný model na štúdium molekulárnych mechanizmov nemalobunkového karcinómu pľúc.

Organism Ľudské

Tissue Pľúca

Disease Veľkobunkový karcinóm pľúc

Metastatic site Pleurálny výpotok

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

Charakteristika

Gender Muži

Ethnicity Európska

Morphology Epitelové

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation H-460 (katalógové číslo Cytion 305020)

Biosafety level 1

Bunky NCI-H460 | 305020**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0459**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Áno**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky NCI-H460 | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCI-H460 | 305020

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.