

Celice NCI-H460 | 305020

Splošne informacije

Description NCI-H460, znan tudi kot H460, je bil pridobljen iz moškega bolnika z velikoceličnim pljučnim karcinomom. Celice NCI-H460 so adherentne celice, ki rastejo dvakrat hitreje kot celice A549, njihov čas podvojitve pa je 33 ur v RPMI 1640, dopolnjenem z 10 % FBS. Na modelih in vitro in in vivo, vključno z golimi mišmi, lahko tvorijo tumorje. Pokazalo se je, da celice NCI-H460 izražajo mRNA p53 na visoki ravni, primerljivi z normalnim pljučnim tkivom, pri čemer ne kažejo nobenih grobih strukturnih nepravilnosti DNK. Pozitivno se obarvajo za keratin in vimentin, vendar so negativne za nevrofilamentni tripletni protein. Izoencimska analiza je pokazala, da je HPRT lokaliziran na površini teh celičnih linij nedrobnoceličnega pljučnega raka. Izoencimi AK-1, ES-D in Me-2 so izraženi na ravni 1, medtem ko so izoencimi G6PD ter PGM1 in PGM3 izraženi na ravni B oziroma 1-2. Celice imajo hipotriploidni kariotip z modalnim številom kromosomov 57, ki se giblje med 53 in 65. Sedem označevalnih kromosomov je skupnih vsem celicam, vključno z der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Zaradi visoke ravni izražanja mRNA p53 so primerne za preučevanje molekularnih mehanizmov nedrobnoceličnega pljučnega raka.

Organism Človek

Tissue Pljuča

Disease Velikocelični karcinom pljuč

Metastatic site Plevralni izliv

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

Značilnosti

Gender Moški

Ethnicity Evropski

Morphology Epitelijski

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation H-460 (katalogska številka Cytion 305020)

Biosafety level 1

Celice NCI-H460 | 305020

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0459

Biomolekularni podatki

Tumorigenic Da

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice NCI-H460 | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCI-H460 | 305020

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.