

NCI-H460 Hücreleri | 305020

Genel bilgi

Description	H460 olarak da bilinen NCI-H460, büyük hücreli akciğer karsinomu olan bir erkek hastadan türetilmiştir. NCI-H460 hücreleri, %10 FBS ile desteklenmiş RPMI 1640'ta 33 saatlik ikiye katlama süresiyle A549 hücrelerinden iki kat daha hızlı büyüyen yapışık hücrelerdir. Çıplak fareler de dahil olmak üzere hem in vitro hem de in vivo modellerde tümör oluşturabilirler. NCI-H460 hücrelerinin normal akciğer dokusuyla karşılaştırılabilir yüksek seviyelerde p53 mRNA eksprese ettiği ve kaba yapısal DNA anormallikleri sergilemediği gösterilmiştir. Keratin ve vimentin için pozitif boyanır ancak nörofilament üçlü protein için negatiftirler. İzoenzim analizi, HPRT'nin bu küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücre hatlarının yüzeyinde lokalize olduğunu göstermiştir. AK-1, ES-D ve Me-2 izoenzimleri seviye 1'de ifade edilirken, G6PD ve PGM1 ve PGM3 izoenzimleri sırasıyla seviye B ve 1-2'de ifade edilmektedir. Hücreler, 53 ila 65 arasında değişen 57 modal kromozom sayısına sahip hipotriploid bir karyotipe sahiptir. Der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22) dahil olmak üzere yedi işaret kromozomu tüm hücrelerde ortaktır. p53 mRNA'sının yüksek ekspresyon seviyeleri, onları küçük hücreli olmayan akciğer kanserinin moleküler mekanizmalarını incelemek için uygun bir model haline getirir.
Organism	İnsan
Tissue	Akciğer
Disease	Akciğer büyük hücreli karsinomu
Metastatic site	Plevral efüzyon
Synonyms	NCI-H460, NCI.H460, H-460, NCIH460, NCI-HUT-460, NCI-460

Özellikler

Gender	Erkek
Ethnicity	Avrupa
Morphology	Epitelyal
Growth properties	Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation	H-460 (Cytion katalog numarası 305020)
Biosafety level	1

NCI-H460 Hücreleri | 305020

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0459

Biyomoleküler Veriler

Tumorigenic Evet

Elleçleme

Culture Medium RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

NCI-H460 Hücreleri | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

NCI-H460 Hücreleri | 305020

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.