

## Клітини NCI-H460 | 305020

## Загальна інформація

**Description** Клітини NCI-H460, також відомі як H460, були отримані від пацієнта з недрібноклітинним раком легень. Клітини NCI-H460 є адгезійними клітинами, що ростуть вдвічі швидше, ніж клітини A549, з часом подвоєння 33 години в середовищі RPMI 1640 з додаванням 10% FBS. Вони можуть утворювати пухлини як в моделях *in vitro*, так і *in vivo*, в тому числі на голих мишах. Показано, що клітини NCI-H460 експресують мРНК p53 на високих рівнях, порівнянних з нормальною легеневою тканиною, не виявляючи при цьому грубих структурних аномалій ДНК. Вони позитивно забарвлюються на кератин і віментин, але негативно на потрійний білок нейрофіламентів. Ізоферментний аналіз показав, що HPRT локалізується на поверхні цих клітинних ліній недрібноклітинного раку легень. Ізоферменти AK-1, ES-D і Me-2 експресуються на рівні 1, тоді як G6PD та ізоферменти PGM1 і PGM3 експресуються на рівні B і 1-2 відповідно. Клітини мають гіпотриплоїдний каріотип з модальним числом хромосом 57, що варіює від 53 до 65. Сім маркерних хромосом є спільними для всіх клітин, включаючи der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Високий рівень експресії мРНК p53 робить їх придатною моделлю для вивчення молекулярних механізмів недрібноклітинного раку легень.

**Organism** Людина

**Tissue** Легені

**Disease** Крупноклітинна карцинома легень

**Metastatic site** Плевральний випіт

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

## Характеристики

**Gender** Чоловік

**Ethnicity** Європейський

**Morphology** Епітеліальний

**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

**Citation** H-460 (номер за каталогом Cytion 305020)

**Biosafety level** 1

## Клітини NCI-H460 | 305020

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_0459

## Біомолекулярні дані

Tumorigenic Так

## Обробка

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO<sub>3</sub> (номер за каталожним номером 820700a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## Клітини NCI-H460 | 305020

### Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

### Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

### Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини NCI-H460 | 305020

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.