

NCI-H460-Zellen | 305020

Allgemeine Informationen

Description NCI-H460, auch bekannt als H460, wurde von einem männlichen Patienten mit großzelligem Lungenkarzinom gewonnen. NCI-H460-Zellen sind adhärente Zellen, die doppelt so schnell wachsen wie A549-Zellen mit einer Verdopplungszeit von 33 Stunden in RPMI 1640, ergänzt mit 10% FBS. Sie können sowohl in In-vitro- als auch in In-vivo-Modellen, einschließlich Nacktmäusen, Tumore bilden. NCI-H460-Zellen exprimieren nachweislich p53-mRNA auf hohem Niveau, vergleichbar mit normalem Lungengewebe, und weisen keine groben strukturellen DNA-Anomalien auf. Sie weisen eine positive Färbung für Keratin und Vimentin auf, sind aber negativ für das Neurofilament-Triplet-Protein. Isoenzymanalysen haben gezeigt, dass HPRT auf der Oberfläche dieser nicht-kleinzelligen Lungenkrebs-Zelllinien lokalisiert ist. Die Isoenzyme AK-1, ES-D und Me-2 werden auf Stufe 1 exprimiert, während die Isoenzyme G6PD und PGM1 und PGM3 auf Stufe B bzw. 1-2 exprimiert werden. Die Zellen haben einen hypotriploiden Karyotyp mit einer modalen Chromosomenzahl von 57, die von 53 bis 65 reicht. Sieben Markerchromosomen sind allen Zellen gemeinsam, darunter der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Ihre hohe Expressionsrate von p53 mRNA macht sie zu einem geeigneten Modell für die Untersuchung der molekularen Mechanismen des nicht-kleinzelligen Lungenkrebses.

Organism Menschen

Tissue Lunge

Disease Großzelliges Karzinom der Lunge

Metastatic site Pleuraerguss

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

Merkmale

Gender Männlich

Ethnicity Europäisch

Morphology Epithelial

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation H-460 (Cytion-Katalognummer 305020)

Biosafety level 1

NCI-H460-Zellen | 305020

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0459

Biomolekulare Daten

Tumorigenic Ja

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Split ratio** 1:2 bis 1:4**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

NCI-H460-Zellen | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NCI-H460-Zellen | 305020

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 13
D16S539: 9
D5S818: 9,10
D7S820: 9,12
TH01: 9.3
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