

## NCI-H460 rakud | 305020

## Üldine teave

**Description** NCI-H460, tuntud ka kui H460, on saadud suurkarakulise kopsukartsinoomiga meessoost patsiendilt. NCI-H460 rakud on adherentsed rakud, mis kasvavad kaks korda kiiremini kui A549 rakud, kahekordistumisajaga 33 tundi RPMI 1640-s, millele on lisatud 10% FBS. Nad võivad moodustada kasvajaid nii in vitro kui ka in vivo mudelites, sealhulgas nude hiirtel. On näidatud, et NCI-H460 rakud ekspresseerivad p53 mRNA-d kõrgel tasemel, mis on võrreldav normaalse kopsukoe tasemega, samas ei ole neil mingeid suuri struktuurilisi DNA kõrvalekaldeid. Nad värvuvad positiivselt keratiini ja vimentiini suhtes, kuid on negatiivsed neurofilamentide triplettvalgu suhtes. Isoensüümianalüüs on näidanud, et HPRT lokaliseerub nende mitteväikerakkude kopsuvähi rakuliinide pinnal. AK-1, ES-D ja Me-2 isoensüümid ekspresseeruvad tasemel 1, samas kui G6PD ja PGM1 ja PGM3 isoensüümid ekspresseeruvad vastavalt tasemel B ja 1-2. Rakkudel on hüpotriploidne kariotüüp, mille modaalne kromosoomide arv on 57, vahemikus 53-65. Kõigile rakkudele on ühised seitse markerkromosoomi, sealhulgas der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Nende kõrge p53 mRNA ekspressiooni tase muudab nad sobivaks mudeliks mitteväikerakk-kopsuvähi molekulaarsete mehhanismide uurimiseks.

**Organism** Inimene

**Tissue** Kopsud

**Disease** Kopsu suurkarakuline kartsinoom

**Metastatic site** Pleuraefusioon

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

## Omadused

**Gender** Mees

**Ethnicity** Euroopa

**Morphology** Epiteel

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** H-460 (Cytioni katalooginumber 305020)

**Biosafety level** 1

## NCI-H460 rakud | 305020

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_0459

## Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Jah

## Töötlemine

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## NCI-H460 rakud | 305020

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**NCI-H460 rakud | 305020**

**Storage  
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

**Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA**

**Sterility**

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.