

## NCI-H460-solut | 305020

## Yleisiä tietoja

**Description** NCI-H460, joka tunnetaan myös nimellä H460, on peräisin miespotilaalta, jolla oli suurisolainen keuhkosityöpä. NCI-H460-solut ovat adherenttejä soluja, jotka kasvavat kaksi kertaa nopeammin kuin A549-solut, ja niiden kaksinkertaistumisaika on 33 tuntia RPMI 1640:ssä, jota on täydennetty 10 prosentilla FBS:ää. Ne voivat muodostaa kasvaimia sekä in vitro- että in vivo -malleissa, kuten nude-hiirillä. NCI-H460-solujen on osoitettu ilmentävän p53-mRNA:ta korkeilla tasoilla, jotka ovat verrattavissa normaaliin keuhkokudokseen, mutta niissä ei esiinny karkeaa rakenteellista DNA-poikkeavuutta. Ne värjäytyvät positiivisesti keratiinille ja vimentiinille, mutta ovat negatiivisia neurofilamentti-triplet-proteiinille. Isoentsyymianalyysi on osoittanut, että HPRT on lokalisoitunut näiden ei-pienisolujen keuhkosityöpäsolulinjojen pinnalle. AK-1-, ES-D- ja Me-2-isoentsyymit ilmentyvät tasolla 1, kun taas G6PD- ja PGM1- ja PGM3-isoentsyymit ilmentyvät tasolla B ja 1-2. Soluilla on hypotriploidinen karyotyyppi, jonka modaalin kromosomiluku on 57, vaihteluväli 53-65. Seitsemän merkkikromosomia on yhteistä kaikille soluille, mukaan lukien der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Koska solut ilmentävät runsaasti p53-mRNA:ta, ne ovat sopiva malli ei-pienisolujen keuhkosityövän molekyylimekanismien tutkimiseen.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Keuhkot

**Disease** Keuhkojen suurisolainen karsinooma

**Metastatic site** Pleuraeffuusio

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

## Ominaisuudet

**Gender** Mies

**Ethnicity** Eurooppalainen

**Morphology** Epiteeli

**Growth properties** Tarttuva

## Säätelytiedot

**Citation** H-460 (Cytionin luettelonumero 305020)

**Biosafety level** 1

## NCI-H460-solut | 305020

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0459**Biomolekyylitiedot****Tumorigenic** Kyllä**Käsittely****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

## NCI-H460-solut | 305020

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation  
Atmosphere**

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing  
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping  
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## NCI-H460-solut | 305020

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.