Product sheet

Cellules NCI-H460 | 305020

Informations générales

Description	NCI-H460, également connu sous le nom de H460, a été dérivé d'un patient mâle atteint d'un carcinome pulmonaire à grandes cellules. Les cellules NCI-H460 sont des cellules adhérentes qui croissent deux fois plus vite que les cellules A549, avec un temps de doublement de 33 heures dans RPMI 1640 additionné de 10 % de FBS. Elles peuvent former des tumeurs dans des modèles in vitro et in vivo, y compris chez la souris nude. Les cellules NCI-H460 expriment l'ARNm p53 à des niveaux élevés comparables à ceux du tissu pulmonaire normal, tout en ne présentant pas d'anomalies structurelles flagrantes de l'ADN. Elles présentent une coloration positive pour la kératine et la vimentine, mais une coloration négative pour la protéine triplet du neurofilament. L'analyse isoenzymatique a montré que l'HPRT est localisée à la surface de ces lignées cellulaires de cancer du poumon non à petites cellules. Les isoenzymes AK-1, ES-D et Me-2 sont exprimées au niveau 1, tandis que les isoenzymes G6PD et PGM1 et PGM3 sont exprimées aux niveaux B et 1-2, respectivement. Les cellules ont un caryotype hypotriploïde avec un nombre modal de chromosomes de 57, allant de 53 à 65. Sept chromosomes marqueurs sont communs à toutes les cellules, notamment der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Leurs niveaux élevés d'expression de l'ARNm p53 en font un modèle approprié pour l'étude des mécanismes moléculaires du cancer du poumon non à petites cellules.
Organism	Humain
Tissue	Poumon
Disease	Carcinome pulmonaire à grandes cellules
Metastatic site	Épanchement pleural
Synonyms	NCI-H460, NCI.H460, H-460, NCIH460, NCI-HUT-460, NCI-460

Caractéristiques

Gender	Homme
Ethnicity	Européen
Morphology	Épithéliale
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	H-460 (numéro de catalogue Cytion 305020)
Biosafety level	1

Cellules NCI-H460 | 305020

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0459

Données biomoléculaires

Tumorigenic	Oui

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1:2 à 1:4
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules NCI-H460 | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules NCI-H460 | 305020

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.
Profil STR	**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