

## Komórki NCI-H460 | 305020

## Informacje ogólne

**Description** Komórki NCI-H460, znane również jako H460, pochodzą od mężczyzny z wielkokomórkowym rakiem płuc. Komórki NCI-H460 są komórkami przylegającymi, rosnącymi dwa razy szybciej niż komórki A549 z czasem podwojenia wynoszącym 33 godziny w RPMI 1640 uzupełnionym 10% FBS. Mogą one tworzyć guzy zarówno w modelach in vitro, jak i in vivo, w tym u nagich myszy. Wykazano, że komórki NCI-H460 wykazują ekspresję mRNA p53 na wysokich poziomach porównywalnych do normalnej tkanki płucnej, nie wykazując jednocześnie rażących nieprawidłowości strukturalnych DNA. Pozytywnie wybarwiają się na keratynę i wimentynę, ale są ujemne dla białka tripletowego neurofilamentu. Analiza izoenzymów wykazała, że HPRT jest zlokalizowana na powierzchni tych linii komórek niedrobnokomórkowego raka płuc. Izoenzymy AK-1, ES-D i Me-2 ulegają ekspresji na poziomie 1, podczas gdy izoenzymy G6PD oraz PGM1 i PGM3 ulegają ekspresji odpowiednio na poziomie B i 1-2. Komórki mają kariotyp hipotriploidalny z modalną liczbą chromosomów wynoszącą 57, w zakresie od 53 do 65. Siedem chromosomów markerowych jest wspólnych dla wszystkich komórek, w tym der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Wysoki poziom ekspresji mRNA p53 czyni je odpowiednim modelem do badania molekularnych mechanizmów niedrobnokomórkowego raka płuc.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Płuco

**Disease** Rak wielkokomórkowy płuca

**Metastatic site** Wąsiek opłucnowy

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

## Charakterystyka

**Gender** Męczyzna

**Ethnicity** Europejski

**Morphology** Nabłonek

**Growth properties** Adherent

## Dane regulacyjne

**Citation** H-460 (numer katalogowy Cytion 305020)

**Biosafety level** 1

**Komórki NCI-H460 | 305020****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0459**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tak**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** 1:2 do 1:4**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki NCI-H460 | 305020****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki NCI-H460 | 305020

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### 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