

Клітини NCI-H460 | 305020

Загальна інформація

Description Клітини NCI-H460, також відомі як H460, були отримані від пацієнта з недрібноклітинним раком легень. Клітини NCI-H460 є адгезійними клітинами, що ростуть вдвічі швидше, ніж клітини A549, з часом подвоєння 33 години в середовищі RPMI 1640 з додаванням 10% FBS. Вони можуть утворювати пухлини як в моделях *in vitro*, так і *in vivo*, в тому числі на голих мишах. Показано, що клітини NCI-H460 експресують мРНК p53 на високих рівнях, порівнянних з нормальною легеневою тканиною, не виявляючи при цьому грубих структурних аномалій ДНК. Вони позитивно забарвлюються на кератин і віментин, але негативно на потрійний білок нейрофіламентів. Ізоферментний аналіз показав, що HPRT локалізується на поверхні цих клітинних ліній недрібноклітинного раку легень. Ізоферменти AK-1, ES-D і Me-2 експресуються на рівні 1, тоді як G6PD та ізоферменти PGM1 і PGM3 експресуються на рівні B і 1-2 відповідно. Клітини мають гіпотриплоїдний каріотип з модальним числом хромосом 57, що варіює від 53 до 65. Сім маркерних хромосом є спільними для всіх клітин, включаючи der(9)t(1;9)(q21;p24), der(9)t(7;9)(p11;p22), t(10q14q), der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Високий рівень експресії мРНК p53 робить їх придатною моделлю для вивчення молекулярних механізмів недрібноклітинного раку легень.

Organism Людина

Tissue Легені

Disease Крупноклітинна карцинома легень

Metastatic site Плевральний випіт

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

Характеристики

Gender Чоловік

Ethnicity Європейський

Morphology Епітеліальний

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation H-460 (номер за каталогом Cytion 305020)

Biosafety level 1

Клітини NCI-H460 | 305020

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0459

Біомолекулярні дані

Tumorigenic Так

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини NCI-H460 | 305020

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NCI-H460 | 305020

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.