Product sheet

Cellules NCI-H460 | 305020

Renseignements généraux

Description	La lignée NCI-H460, également connue sous le nom de H460, a été isolée à partir d'un patient de sexe masculin atteint d'un carcinome pulmonaire à grandes cellules. Les cellules NCI-H460 sont des cellules adhérentes dont la croissance est deux fois plus rapide que celle des cellules A549, avec un temps de doublement de 33 heures dans du milieu RPMI 1640 enrichi de 10 % de sérum fœtal bovin (FBS). Elles peuvent former des tumeurs aussi bien dans des modèles in vitro qu'in vivo, y compris chez les souris nues. Il a été démontré que les cellules NCI-H460 expriment l'ARNm de p53 à des niveaux élevés comparables à ceux du tissu pulmonaire normal, tout en ne présentant aucune anomalie structurelle majeure de l'ADN. Elles se colorent positivement pour la kératine et la vimentine, mais sont négatives pour la protéine triplet des neurofilaments. L'analyse des isoenzymes 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, PGM1 et PGM3 sont exprimées respectivement aux niveaux B et 1-2. Les cellules présentent un caryotype hypotriploïde avec un nombre modal de chromosomes de 57, variant 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) et der(16)t(7;16)(q11.23;q22). Leurs niveaux d'expression élevés de l'ARNm de p53 en font un modèle approprié pour l'étude des mécanismes moléculaires du cancer du poumon à cellules non petites.
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	Épithélial
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

Citation	H-460 (numéro de catalogue Cytion 305020)

Cellules NCI-H460 | 305020

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0459

Données biomoléculaires

Tumorigenic	Oui

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules NCI-H460 | 305020

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

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

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

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

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

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la 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 par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.