

Buňky NCI-H520 | 305063

Obecné informace

Description	Buněčná linie byla založena v roce 1982 ze vzorku plicní masy odebrané A. F. Gazdarem pacientovi s dlaždicobuněčným karcinomem plic. Tato buněčná linie exprimuje výrazně sníženou hladinu mRNA p53 ve srovnání s normální plicní tkání. Buňky nevykazují žádné hrubé strukturální abnormality DNA. Buňky se barví pozitivně na keratin a vimentin, ale negativně na neurofilamentový tripletový protein. Buňky mohou tvořit kolonie v měkkém agaru se sérem nebo bez něj.
Organism	Člověk
Tissue	Plíce
Disease	Spinocelulární karcinom plic
Synonyms	NCI-H520, H-520, NCI-HUT-520, NCIH520

Charakteristika

Gender	Muži
Ethnicity	Evropská
Morphology	Epitelové
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	NCI-H520 (katalogové číslo Cytion 305063)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1566

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ano, u nahých myší, kterým bylo podkožně naočkováno 1×10^7 buněk (nádory se vyvinuly do 21 dnů se 100% frekvencí (5/5)).
--------------------	---

Buňky NCI-H520 | 305063

Zpracování

Culture MediumRPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements**

Doplňte médium o 10 % tepelně inaktivovaného FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

32 až 60 hodin

Subculturing

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio

1: 3 až 1: 4

Fluid renewal

2 až 3krát týdně

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky NCI-H520 | 305063

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCI-H520 | 305063

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10
D13S317: 10,11
D16S539: 13
D5S818: 12,13
D7S820: 8,12
TH01: 10
TPOX: 8
vWA: 18,19
D3S1358: 16
D21S11: 30
D18S51: 17
Penta E: 5,14
Penta D: 13
D8S1179: 14,16,17
FGA: 22
D1S1656: 14,16.3
D6S1043: 12,18
D2S1338: 18,23
D12S391: 21
D19S433: 13,14