

## Κύτταρα NCI-H520 | 305063

## Γενικές πληροφορίες

**Description** Η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε το 1982 από δείγμα πνευμονικής μάζας που έλαβε ο A.F. Gazdar από ασθενή με πλακώδες καρκίνωμα του πνεύμονα. Αυτή η κυτταρική σειρά εκφράζει πολύ μειωμένο επίπεδο mRNA p53 σε σύγκριση με τον φυσιολογικό πνευμονικό ιστό. Τα κύτταρα δεν παρουσιάζουν ακαθάριστες δομικές ανωμαλίες του DNA. Τα κύτταρα χρωματίζονται θετικά για κερατίνη και βιμεντίνη αλλά αρνητικά για την τριπλή πρωτεΐνη νευροϊνιδίων. Τα κύτταρα μπορούν να σχηματίσουν αποικίες σε μαλακό άγαρ με/χωρίς ορό.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Πνεύμονας

**Disease** Πλακώδες καρκίνωμα του πνεύμονα

**Synonyms** NCI-H520, H-520, NCI-HUT-520, NCIH520

## Χαρακτηριστικά

**Gender** Άντρας

**Ethnicity** Ευρωπαϊκό

**Morphology** Επιθηλιακό

**Growth properties** Προσκολλημένο

## Ρυθμιστικά δεδομένα

**Citation** NCI-H520 (αριθμός καταλόγου Cytion 305063)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1566

## Βιομοριακά δεδομένα

**Tumorigenic** Ναι, σε γυμνά ποντίκια στα οποία εμβολιάστηκαν υποδόρια  $1 \times 10^7$  κύτταρα (οι όγκοι αναπτύχθηκαν εντός 21 ημερών με συχνότητα 100% (5/5)).

## Κύτταρα NCI-H520 | 305063

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το θρεπτικό μέσο με 10% θερμικά αδρανοποιημένο FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	32 έως 60 ώρες
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
<b>Split ratio</b>	1:3 έως 1:4
<b>Fluid renewal</b>	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
<b>Freeze medium</b>	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Κύτταρα NCI-H520 | 305063****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Κύτταρα NCI-H520 | 305063****Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

**Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA****Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

**Προφίλ 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