

## NCI-H520 rakud | 305063

## Üldine teave

<b>Description</b>	Rakuliin loodi 1982. aastal A.F. Gazdari poolt kopsu massi proovist, mis võeti kopsu koldekoldekartsinoomiga patsiendilt. Võrreldes normaalse kopsukoos olevaga on selle rakuliini p53 mRNA tase oluliselt vähenenud. Rakkudel ei ole suuri struktuurilisi DNA kõrvalekaldeid. Rakud värvuvad positiivselt keratiini ja vimentiini suhtes, kuid negatiivselt neurofilamentide kolmikvalgu suhtes. Rakud võivad moodustada kolooniaid pehmel agaril koos seerumiga või ilma selleta.
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Kopsud
<b>Disease</b>	Kopsu lamerakk-kartsinoom
<b>Synonyms</b>	NCI-H520, H-520, NCI-HUT-520, NCIH520, NCIH520

## Omadused

<b>Gender</b>	Mees
<b>Ethnicity</b>	Euroopa
<b>Morphology</b>	Epiteel
<b>Growth properties</b>	Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	NCI-H520 (Cytioni katalooginumber 305063)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1566

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Tumorigenic</b>	Jah, alasti hiirtel, kellele süstiti naha alla $1 \times 10^7$ rakku (kasvajad tekkisid 21 päeva jooksul 100% sagedusega (5/5)).
--------------------	--

## NCI-H520 rakud | 305063

## Töötlemine

**Culture Medium**RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements**

Täiendada söötme 10% soojusinaktiveeritud FBS-iga

**Dissociation Reagent**

Accutase

**Doubling time**

32 kuni 60 tundi

**Subculturing**

Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

**Split ratio**

1:3 kuni 1:4

**Fluid renewal**

2 kuni 3 korda nädalas

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## NCI-H520 rakud | 305063

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## NCI-H520 rakud | 305063

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### STR-profiil

**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