

## Komórki NCI-H520 | 305063

## Informacje ogólne

**Description** Linia komórkowa została utworzona w 1982 r. z próbki masy płuca pobranej przez A.F. Gazdara od pacjenta z rakiem płaskonabłonkowym płuca. Ta linia komórkowa wykazuje znacznie obniżony poziom ekspresji mRNA p53 w porównaniu do normalnej tkanki płucnej. Komórki nie wykazują strukturalnych nieprawidłowości DNA. Komórki wybarwiają się dodatnio na keratynę i wimentynę, ale ujemnie na białko tripletowe neurofilamentu. Komórki mogą tworzyć kolonie w miękkim agarze z/bez surowicy.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Płuco

**Disease** Rak płaskonabłonkowy płuc

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

## Charakterystyka

**Gender** Mężczyzna

**Ethnicity** Europejski

**Morphology** Nabłonek

**Growth properties** Adherent

## Dane regulacyjne

**Citation** NCI-H520 (numer katalogowy Cytion 305063)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1566

## Dane biomolekularne

**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy, którym podskórnice wstrzyknięto  $1 \times 10^7$  komórek (nowotwory rozwinęły się w ciągu 21 dni z częstotliwością 100% (5/5)).

## Komórki NCI-H520 | 305063

## Obsługa

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS inaktywowanym termicznie
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	od 32 do 60 godzin
<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
<b>Split ratio</b>	1: 3 do 1: 4
<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu
<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki NCI-H520 | 305063

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki NCI-H520 | 305063

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### 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