

Celule NCI-H520 | 305063

Informații generale

Description	Linia celulară a fost creată în 1982 pornind de la o mostră de masă pulmonară prelevată de A.F. Gazdar de la un pacient cu carcinom pulmonar cu celule scuamoase. Această linie celulară exprimă un nivel foarte redus de ARNm p53 în comparație cu țesutul pulmonar normal. Celulele nu prezintă anomalii structurale grosiere ale ADN-ului. Celulele se colorează pozitiv pentru keratină și vimentină, dar negativ pentru neurofilament triplet protein. Celulele pot forma colonii în agar moale cu sau fără ser.
Organism	Om
Tissue	Plămân
Disease	Carcinom pulmonar cu celule scuamoase
Synonyms	NCI-H520, H-520, NCI-HUT-520, NCIH520

Caracteristici

Gender	Masculin
Ethnicity	Europeană
Morphology	Epitelial
Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	NCI-H520 (număr de catalog Cytion 305063)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1566

Date biomoleculare

Tumorigenic	Da, la șoareci nuda inoculați subcutanat cu 1×10^7 celule (tumorile s-au dezvoltat în termen de 21 de zile cu o frecvență de 100% (5/5)).
--------------------	--

Celule NCI-H520 | 305063

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS inactivat termic
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	32 până la 60 de ore
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Split ratio	1:3 – 1:4
Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule NCI-H520 | 305063

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NCI-H520 | 305063

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Profilul 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