

Células NCI-H520 | 305063

Información general

Description La línea celular se estableció en 1982 a partir de una muestra de una masa pulmonar obtenida por A.F. Gazdar de un paciente con carcinoma de células escamosas de pulmón. Esta línea celular presenta un nivel de ARNm de p53 muy reducido en comparación con el tejido pulmonar normal. Las células no presentan anomalías estructurales evidentes en el ADN. Las células se tiñen positivamente para queratina y vimentina, pero negativamente para la proteína del triplete de neurofilamentos. Las células pueden formar colonias en agar blando con o sin suero.

Organism Humano

Tissue Pulmón

Disease Carcinoma pulmonar de células escamosas

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

Características

Gender Hombre

Ethnicity Europeo

Morphology Epithelial

Growth properties Adherente

Datos normativos

Citation NCI-H520 (número de catálogo de Cytion 305063)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1566

Datos biomoleculares

Células NCI-H520 | 305063

Tumorigenic Sí, en ratones nude a los que se les inoculó por vía subcutánea 1×10^7 células (los tumores se desarrollaron en un plazo de 21 días con una frecuencia del 100 % (5/5)).

Manejo

Culture Medium RPMI 1640, con 2,0 mM de glutamina estable y 2,0 g/L de NaHCO_3 (número de artículo de Cytion: 820700a)

Supplements Añade al medio un 10 % de suero fetal bovino (FBS) inactivado por calor

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time De 32 a 60 horas

Subculturing Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.

Fluid renewal De 2 a 3 veces por semana

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células NCI-H520 | 305063

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. El almacenamiento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células NCI-H520 | 305063

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.