

## Cellules NCI-H520 | 305063

## Renseignements généraux

**Description** Cette lignée cellulaire a été établie en 1982 à partir d'un échantillon de masse pulmonaire prélevé par A.F. Gazdar chez un patient atteint d'un carcinome épidermoïde du poumon. Cette lignée cellulaire présente un niveau d'ARNm de p53 considérablement réduit par rapport au tissu pulmonaire normal. Les cellules ne présentent aucune anomalie structurelle macroscopique de l'ADN. Elles se colorent positivement pour la kératine et la vimentine, mais négativement pour la protéine triplet des neurofilaments. Elles sont capables de former des colonies dans de l'agar mou, avec ou sans sérum.

**Organism** Humain

**Tissue** Poumon

**Disease** Carcinome épidermoïde du poumon

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

## Caractéristiques

**Gender** Homme

**Ethnicity** européen

**Morphology** Épithélial

**Growth properties** Adepté

## Données réglementaires

**Citation** NCI-H520 (numéro de catalogue Cytion 305063)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1566

## Données biomoléculaires

## Cellules NCI-H520 | 305063

**Tumorigenic** Oui, chez les souris nues ayant reçu une inoculation sous-cutanée de  $1 \times 10^7$  cellules, des tumeurs se sont développées dans les 21 jours avec une fréquence de 100 % (5/5).

## Manipulation

**Culture Medium** RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de  $\text{NaHCO}_3$  (numéro d'article Cytion 820700a)

**Supplements** Ajouter au milieu 10 % de sérum fœtal bovin (FBS) inactivé par la chaleur

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** de 32 à 60 heures

**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

## Cellules NCI-H520 | 305063

### Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à  $-150\text{ °C}$  pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à  $37\text{ °C}$  contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à  $300 \times g$  pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ °C}$ , 5 % de  $\text{CO}_2$ , atmosphère humidifiée.

### Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ  $-78\text{ °C}$  pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

### Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ  $-150$  et  $-196\text{ °C}$ . L'entreposage à  $-80\text{ °C}$  n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

### Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.