

Buňky NCI-H23 | 305044

Obecné informace

Description	Tato linie byla vytvořena z plicní tkáně získané od 59letého černošského pacienta s adenokarcinomem plic před léčbou. Buňky nesou mutaci K-ras 12 a mutaci v kodonu 246 (ATC →ATG, izoleucin → methionin) genu p53. Buňky exprimují RNA C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras a N-ras. Buněčná linie má heterogenní expresi mRNA pro řetězce PDGF A a B, transformující růstový faktor alfa a beta a receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR). NCI-H23 vykazuje 20krát vyšší úroveň amplifikace DNA c-myc bez detekovatelné amplifikace RNA c-myc. Buňky se barví pozitivně na keratiny 5+8 a 18 a vimentin, ale negativně na neurofilamenta. Buňky jsou negativní na L-dopa dekarboxylázu. Buňky mohou tvořit kolonie v měkké agaróze s účinností 9,7 %.
Organism	Člověk
Tissue	Plíce
Disease	Adenokarcinom plic
Metastatic site	Není relevantní (primární adenokarcinom plic; v době zahájení léčby nebyly zaznamenány žádné vzdálené metastázy)
Applications	Výzkum adenokarcinomu plic; biologie NSCLC s mutací KRAS G12C; analýza signální dráhy EGFR; studie amplifikace genu c-Myc; citlivost na léky (cílené přípravky, chemoterapie); výzkum panelu NCI-60; signalizace PDGF/TGF-β
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Charakteristika

Age	51 let
Gender	Muži
Ethnicity	Africké
Morphology	Epitelové
Cell type	Epitelové buňky
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Buňky NCI-H23 | 305044

Citation	NCI-H23 (katalogové číslo Cytion 305044)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1547
GMO Status	Bez genetické modifikace; buněčná linie adenokarcinomu plic typu wildtype. Somatické mutace (KRAS G12C, TP53 kodon 246) představují endogenní změny vzniklé v nádoru.

Biomolekulární data

Protein expression	Myc+, src+, abl+, erb+, ras+, sis -
--------------------	-------------------------------------

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	38 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	1 až 3
Seeding density	1 až 3×10^4 buněk/cm ²
Fluid renewal	2 až 3krát týdně

Buňky NCI-H23 | 305044**Post-Thaw
Recovery**

Po rozmrazení naneste buňky na kultivační misky v hustotě 5×10^4 buněk/cm² a před první výměnou média počkejte alespoň 24 hodin, aby se buňky přichytily.

**Freeze
medium**

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Buňky NCI-H23 | 305044**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x

CSF1PO: 10

D13S317: 12

D16S539: 11

D5S818: 12,13

D7S820: 9,1

TH01: 6

TPOX: 8,9

vWA: 16,17

D3S1358: 15

D21S11: 30

D18S51: 14

Penta E: 7,17

Penta D: 8

D8S1179: 15

FGA: 24

D6S1043: 12

D2S1338: 18,23

D12S391: 15,17

D19S433: 12,14