

NCI-H23-celler | 305044

Generel information

Description	Denne linje blev etableret fra lungekræftvæv fra en 59-årig sort mandlig lungeadenokarcinompatient før behandling. Cellerne bærer mutationen K-ras 12 og en mutation i codon 246 (ATC →ATG, isoleucin → methionin) i p53-genet. Cellerne udtrykker C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras og N-ras RNA'er. Cellelinjen har et heterogent mRNA-ekspression for PDGF A- og B-kæden, transformerende vækstfaktor alfa og beta og den epidermale vækstfaktorreceptor (EGFR). NCI-H23 udviser et 20 gange højere niveau af c-myc DNA-amplifikation uden påviselig c-myc RNA-amplifikation. Cellerne farver positivt for keratin 5+8 og 18 og vimentin, men negativt for neurofilament. Cellerne er L-dopa decarboxylase-negative. Cellerne kan danne kolonier i blød agarose med en effektivitet på 9,7 %.
Organism	Menneske
Tissue	Lunge
Disease	Adenokarcinom i lungerne
Metastatic site	Ikke relevant (primært lungeadenokarcinom; ingen dokumenteret fjerne metastase på tidspunktet for behandlingsforløbets påbegyndelse)
Applications	Forskning i lungeadenokarcinom; biologi ved KRAS G12C-mutant NSCLC; analyse af EGFR-signalvejen; undersøgelser af c-Myc-amplifikation; lægemiddelfølsomhed (målrettede lægemidler, kemoterapi); forskning i NCI-60-panelet; PDGF/TGF-β-signalerings
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Karakteristika

Age	51 år
Gender	Mand
Ethnicity	Afrikansk
Morphology	Epitelial
Cell type	Epitheliale celler
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

NCI-H23-celler | 305044

Citation	NCI-H23 (Cytion katalognummer 305044)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1547
GMO Status	Ingen genetisk modifikation; vildtype-cellelinje fra lungeadenokarcinom. Somatiske mutationer (KRAS G12C, TP53 kodon 246) er endogene ændringer, der stammer fra tumoren.

Biomolekylære data

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

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	38 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Split ratio	1 til 3
Seeding density	1 til 3×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	2 til 3 gange om ugen

NCI-H23-celler | 305044

Post-Thaw Recovery

Efter optøning udplades cellerne med en tæthed på 5×10^4 celler/cm², og der skal gå mindst 24 timer, før det første medieskift foretages, så cellerne kan hæfte sig fast.

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryoviolet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

NCI-H23-celler | 305044

**Freezing
Procedure**

Kryopræservede cellerlinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellerlinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse**Sterility**

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

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