

## NCI-H23 rakud | 305044

## Üldine teave

**Description** See liin loodi kopsuvähi koest, mis saadi 59-aastaselt mustanahalisel meessoost kopsu adenokartsinoomiga patsiendilt enne ravi. Rakkudel on K-ras 12 mutatsioon ja p53 geeni koodon 246 (ATC →ATG, isoleutsiin → metioniin) mutatsioon. Rakud ekspresseerivad C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras ja N-ras RNAsid. Rakuliinil on heterogeenne PDGF A- ja B-ahela, transformeeriva kasvufaktori alfa ja beeta ning epidermise kasvufaktori retseptori (EGFR) mRNA ekspressioon. NCI-H23-l on 20 korda suurem c-myc DNA amplifikatsioon ilma tuvastatava c-myc RNA amplifikatsioonita. Rakud värvuvad positiivselt keratiinide 5+8 ja 18 ning vimentini suhtes, kuid negatiivselt neurofilamendi suhtes. Rakud on L-dopa dekarboksülaas-negatiivsed. Rakud suudavad pehmel agarosil moodustada kolooniaid 9,7%-lise efektiivsusega.

**Organism** Inimene

**Tissue** Kopsud

**Disease** Kopsu adenokartsinoom

**Metastatic site** Ei kohaldata (primaarne kopsu adenokartsinoom; ravirežiimi alustamise ajal puudusid dokumenteeritud kaugmetastaasid)

**Applications** Kopsu adenokartsinoomi uurimine; KRAS G12C-mutatsiooniga mitteväikerakk-kopsuvähi bioloogia; EGFR-signaalitee analüüs; c-Myc-amplifikatsiooni uuringud; ravimite suhtes tundlikkus (sihtravimid, keemiaravi); NCI-60 paneeli uurimine; PDGF/TGF-β signaalimine

**Synonyms** NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

## Omadused

**Age** 51 aastat

**Gender** Mees

**Ethnicity** Aafrika

**Morphology** Epiteel

**Cell type** Epiteelirakud

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

## NCI-H23 rakud | 305044

<b>Citation</b>	NCI-H23 (Cytioni katalooginumber 305044)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1547
<b>GMO Status</b>	Geneetilisi muudatusi ei ole tehtud; loodusliku tüüpi kopsu adenokartsinoomi rakuliin. Somaatilised mutatsioonid (KRAS G12C, TP53 kodon 246) on endogeensed, kasvajast pärinevad muutused.

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Protein expression</b>	Myc+, src+, abl+, erb+, ras+, sis -
---------------------------	-------------------------------------

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820700a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS-ga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	38 tundi
<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
<b>Split ratio</b>	1-3
<b>Seeding density</b>	1-3 × 10 <sup>4</sup> rakku/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	2 kuni 3 korda nädalas

## NCI-H23 rakud | 305044

**Post-Thaw Recovery**

Pärast sulatamist külvake rakud tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske neil enne esimest kasvukeskkonna vahetust vähemalt 24 tundi kinnituda.

**Freeze medium**

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## NCI-H23 rakud | 305044

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### STR-profiil

**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