

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

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

Omadused

Age 51 aastat

Gender Mees

Ethnicity Aafrika

Morphology Epiteel

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation NCI-H23 (Cytioni katalooginumber 305044)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1547

NCI-H23 rakud | 305044

Biomolekulaarsed andmed

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

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 38 tundi

Subculturing 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.

Split ratio 1:3 kuni 1:4

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

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.

NCI-H23 rakud | 305044

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H23 rakud | 305044

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 luminesentsil 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