

NCI-H23-solut | 305044

Yleisiä tietoja

Description	Tämä linja perustettiin keuhkosityöpätkudoksesta, joka saatiin 59-vuotiaalta mustaihoiselta miespuoliselta keuhkojen adenokarsinoomapotilaalta ennen hoitoa. Soluissa on K-ras 12 -mutaatio ja p53-geenin koodonin 246 (ATC →ATG, isoleusiini → metioniini) mutaatio. Solut ilmentävät C-myc-, L-myc-, v-src-, v-abl-, v-erb B-, c-raf 1-, Ha-ras-, Ki-ras- ja N-ras-RNA:ta. Solulinjalla on heterogeeninen mRNA-ekspressio PDGF A- ja B-ketjulle, transformoivalle kasvutekijä alfalle ja beetalle sekä epidermisen kasvutekijän reseptorille (EGFR). NCI-H23:ssa on 20-kertainen c-myc-DNA-monistumistaso ilman havaittavaa c-myc-RNA-monistumista. Solut värjäytyvät positiivisesti keratiinien 5+8 ja 18 sekä vimentiniin suhteen, mutta negatiivisesti neurofilamentin suhteen. Solut ovat L-dopa-dekarboksylaasinegatiivisia. Solut voivat muodostaa pesäkkeitä pehmeässä agarosissa 9,7 prosentin tehokkuudella.
Organism	Ihminen
Tissue	Keuhkot
Disease	Keuhkojen adenokarsinooma
Metastatic site	Ei sovelleta (primaarinen keuhkojen adenokarsinooma; etäpesäkkeitä ei ole dokumentoitu hoidon aloittamishetkellä)
Applications	Keuhkojen adenokarsinooman tutkimus; KRAS G12C-mutaation sisältävän ei-pienisoluista keuhkosityövän (NSCLC) biologia; EGFR-signaalintireitin analyysi; c-Myc-amplifikaatiotutkimukset; lääkeherkkyys (kohdennetut lääkkeet, kemoterapia); NCI-60-paneelin tutkimus; PDGF/TGF-β-signaali
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23, NCIH23

Ominaisuudet

Age	51 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Afrikkalainen
Morphology	Epiteeli
Cell type	Epiteelisolut
Growth properties	Tarttuva

NCI-H23-solut | 305044

Säätelytiedot

Citation	NCI-H23 (Cytionin luettelonumero 305044)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1547
GMO Status	Ei geneettistä muuntelua; villityyppinen keuhkojen adenokarsinoomasolulinja. Somaattiset mutaatiot (KRAS G12C, TP53-kodoni 246) ovat kasvaimesta peräisin olevia muutoksia.

Biomolekyylitiedot

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

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	38 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.
Split ratio	1-3
Seeding density	1-3 × 10 ⁴ solua/cm ²

NCI-H23-solut | 305044

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Post-Thaw Recovery Sulatuksen jälkeen solut siirretään viljelyastioihin tiheydellä 5×10^4 solua/cm² ja annetaan niiden kiinnittyä vähintään 24 tuntia ennen ensimmäistä elatusaineen vaihtoa.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

NCI-H23-solut | 305044

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi**Sterility**

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

STR-profiili

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