

Cellules NCI-H23 | 305044

Informations générales

Description	Cette lignée a été créée à partir de tissus de cancer du poumon prélevés sur un patient noir de 59 ans atteint d'un adénocarcinome pulmonaire avant le traitement. Les cellules sont porteuses de la mutation K-ras 12 et d'une mutation dans le codon 246 (ATC →ATG, isoleucine → méthionine) du gène p53. Les cellules expriment les ARN C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras et N-ras. La lignée cellulaire présente une expression hétérogène de l'ARNm pour les chaînes A et B du PDGF, les facteurs de croissance transformants alpha et bêta et le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). NCI-H23 présente un niveau d'amplification de l'ADN c-myc 20 fois plus élevé sans amplification détectable de l'ARN c-myc. Les cellules se colorent positivement pour les kératines 5+8 et 18 et la vimentine, mais négativement pour le neurofilament. Les cellules sont L-dopa décarboxylase négatives. Les cellules peuvent former des colonies dans l'agarose mou avec une efficacité de 9,7 %.
Organism	Humain
Tissue	Poumon
Disease	Adénocarcinome pulmonaire
Metastatic site	Sans objet (adénocarcinome pulmonaire primaire ; aucune métastase à distance documentée au moment de la mise en place du traitement)
Applications	Recherche sur l'adénocarcinome pulmonaire ; biologie du cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC) présentant la mutation KRAS G12C ; analyse de la voie de l'EGFR ; études sur l'amplification de c-Myc ; sensibilité aux médicaments (agents ciblés, chimiothérapie) ; recherche sur le panel NCI-60 ; voies de signalisation PDGF/TGF-β
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Caractéristiques

Age	51 ans
Gender	Homme
Ethnicity	Africains
Morphology	Épithéliale
Cell type	Cellules épithéliales
Growth properties	Adhérent

Cellules NCI-H23 | 305044

Données réglementaires

Citation	NCI-H23 (numéro de catalogue Cytion 305044)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1547
GMO Status	Sans modification génétique ; lignée cellulaire d'adénocarcinome pulmonaire de type sauvage. Les mutations somatiques (KRAS G12C, TP53 codon 246) sont des altérations endogènes issues de la tumeur.

Données biomoléculaires

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

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO3 (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	38 heures
Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Split ratio	1 à 3

Cellules NCI-H23 | 305044

Seeding density 1 à 3×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Post-Thaw Recovery Après décongélation, ensemer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser au moins 24 heures pour l'adhérence avant le premier changement de milieu.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Cellules NCI-H23 | 305044

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating Aucun

Freezing Procedure Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Cellules NCI-H23 | 305044

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