

NCI-H23 sejtek | 305044

Általános információk

Description	Ezt a vonalat egy 59 éves fekete férfi tüdő adenokarcinómás betegből származó tüdőrákszövetből állították elő a terápia előtt. A sejtek a K-ras 12 mutációját és a p53 gén 246-os kodonjának (ATC →ATG, izoleucin -> metionin) mutációját hordozzák. A sejtek C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras és N-ras RNS-eket expresszálnak. A sejtvonal heterogén mRNS-expresszióval rendelkezik a PDGF A és B lánc, a transzformáló növekedési faktor alfa és béta és az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) tekintetében. Az NCI-H23 20-szoros c-myc DNS-amplifikációt mutat, kimutatható c-myc RNS-amplifikáció nélkül. A sejtek pozitívan festődnek keratin 5+8 és 18 és vimentin, de negatívan neurofilamentumra. A sejtek L-dopa dekarboxiláz-negatívak. A sejtek lágy agarózban 9,7%-os hatékonysággal képesek kolóniákat képezni.
Organism	Emberi
Tissue	Tüdő
Disease	Tüdő adenokarcinóma
Metastatic site	Nem alkalmazható (primer tüdőadenokarcinóma; a kezelési sorozat megkezdésekor nem dokumentált távoli áttét)
Applications	Tüdőadenokarcinóma-kutatás; a KRAS G12C mutációval rendelkező nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) biológiája; az EGFR-jelátviteli út elemzése; a c-Myc amplifikációjának vizsgálata; gyógyszerérzékenység (célzott gyógyszerek, kemoterápia); az NCI-60 panel kutatása; PDGF/TGF-β jelátvitel
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Jellemzők

Age	51 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Afrikai
Morphology	Epithelialis
Cell type	Epithel sejtek
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

NCI-H23 sejtek | 305044

Citation	NCI-H23 (Cytion katalógusszám: 305044)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1547
GMO Status	Nincs genetikai módosítás; vad típusú tüdőadenokarcinóma sejtvonal. A szomatikus mutációk (KRAS G12C, TP53 246. kodon) a daganatból eredő endogén változások.

Biomolekuláris adatok

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

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	38 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Split ratio	1-3
Seeding density	$1-3 \times 10^4$ sejt/cm ²
Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal

NCI-H23 sejtek | 305044

**Post-Thaw
Recovery**

Felolvasztás után a sejteket 5×10^4 sejt/cm² sűrűséggel ültessük be a tenyésztőedénybe, és az első tápközcseré előtt legalább 24 órát várjunk, hogy a sejtek tapadjanak.

**Freeze
medium**

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

NCI-H23 sejtek | 305044

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

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