

NCI-H23 ląstelės | 305044

Bendra informacija

Description	Ši linija buvo sukurta iš plaučių vėžio audinio, gauto iš 59 metų juodaodžio vyro, sergančio plaučių adenokarcinoma, prieš gydymą. Ląstelėse nustatyta K-ras 12 mutacija ir p53 geno 246 kodono mutacija (ATC →ATG, izoleucinas → metioninas). Ląstelės ekspresuoja C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras ir N-ras RNR. Ląstelių linija pasižymi heterogeniška PDGF A ir B grandinių, transformuojančio augimo faktoriaus alfa ir beta bei epidermio augimo faktoriaus receptoriaus (EGFR) mRNA raiška. NCI-H23 pasižymi 20 kartų didesne c-myc DNR amplifikacija, o c-myc RNR amplifikacija neaptinkama. Ląstelės teigiamai nudažytos keratinų 5+8 ir 18 bei vimentino, bet neigiamai neurofilamento atžvilgiu. Ląstelės neigiamos L-dopa dekarboksilazei. Ląstelės gali formuoti kolonijas minkštoje agarozėje, jų efektyvumas 9,7 %.
Organism	Žmogus
Tissue	Plaučiai
Disease	Plaučių adenokarcinoma
Metastatic site	Netaikoma (pirminė plaučių adenokarcinoma; gydymo kurso pradžioje nebuvo užfiksuota tolimų metastazių)
Applications	Plaučių adenokarcinomos tyrimai; KRAS G12C mutacijos turinčio neplaučių smulkiųjų ląstelių vėžio (NSCLC) biologija; EGFR signalo kelio analizė; c-Myc amplifikacijos tyrimai; jautrumas vaistams (tiksliniai vaistai, chemoterapija); NCI-60 panelės tyrimai; PDGF/TGF-β signalizacija
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Charakteristikos

Age	51 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Afrikos
Morphology	Epitelis
Cell type	Epitelio ląstelės
Growth properties	Priglundęs

Reguliavimo duomenys

NCI-H23 ląstelės | 305044

Citation	NCI-H23 (Cytion katalogo numeris 305044)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1547
GMO Status	Genetiškai nemodifikuota; natūralaus tipo plaučių adenokarcinomos ląstelių linija. Somatinės mutacijos (KRAS G12C, TP53 kodonas 246) yra endogeniniai, iš naviko kilę pokyčiai.

Biomolekuliniai duomenys

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

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	38 valandos
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Split ratio	1-3
Seeding density	nuo 1 iki 3×10^4 ląstelių/cm ²
Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę

NCI-H23 ląstelės | 305044

Post-Thaw Recovery

Atšildžius, ląsteles išsėkite į lėkštes, išlaikydami tankį 5×10^4 ląstelių/cm², ir prieš pirmąjį terpės keitimą palaukite mažiausiai 24 valandas, kol ląstelės prisitvirtins.

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švairiu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanolio.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

NCI-H23 ląstelės | 305044

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

STR profilis

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