

NCI-H23 šūnas | 305044

Vispārīga informācija

Description	Šī līnija tika izveidota no plaušu vēža audiem, kas iegūti no 59 gadus veca melnādaina vīrieša plaušu adenokarcinomas pacienta pirms terapijas. Šūnām ir K-ras 12 mutācija un p53 gēna 246. kodona mutācija (ATC →ATG, izoleicīns → metionīns). Šūnas ekspresē C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras un N-ras RNS. Šūnu līnijā ir neviendabīga PDGF A un B ķēdes, transformējošā augšanas faktora alfa un beta un epidermālā augšanas faktora receptora (EGFR) mRNS ekspresija. NCI-H23 uzrāda 20 reižu augstāku c-myc DNS amplifikācijas līmeni bez konstatējamās c-myc RNS amplifikācijas. Šūnām ir pozitīvs keratīnu 5+8 un 18 un vimentīna, bet negatīvs neurofilamenta tests. Šūnas ir negatīvas attiecībā uz L-dopa dekarboksilāzi. Šūnas var veidot kolonijas mīkstajā agarozē ar efektivitāti 9,7 %.
Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Disease	Plaušu adenokarcinoma
Metastatic site	Neattiecas (primāra plaušu adenokarcinoma; ārstēšanas posma sākumā nav dokumentētas attālās metastāzes)
Applications	Pētījumi par plaušu adenokarcinomu; KRAS G12C mutācijas nesaturoša neplaušu mazšūnu karcinoma (NSCLC) bioloģija; EGFR signālceļa analīze; c-Myc amplifikācijas pētījumi; jutība pret zālēm (mērķtiecīgi līdzekļi, ķīmijterapija); pētījumi ar NCI-60 paneļa izmantošanu; PDGF/TGF-β signālceļi
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Raksturojums

Age	51 gads
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Āfrikas
Morphology	Epitēlija
Cell type	Epitēlija šūnas
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

NCI-H23 šūnas | 305044

Citation	NCI-H23 (Cytion kataloga numurs 305044)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1547
GMO Status	Bez ģenētiskām modifikācijām; savvaļas tipa plaušu adenokarcinomas šūnu līnija. Somatiskās mutācijas (KRAS G12C, TP53 kodons 246) ir endogēnas izmaiņas, kas cēlušās no audzēja.

Biomolekulārie dati

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

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	38 stundas
Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Split ratio	no 1 līdz 3
Seeding density	1 līdz 3×10^4 šūnas/cm ²
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā

NCI-H23 šūnas | 305044

Post-Thaw Recovery

Pēc atkausēšanas izsējiet šūnas blīvumā 5×10^4 šūnas/cm² un pirms pirmās barotnes nomaiņas ļaujiet tām vismaz 24 stundas pielipt.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

NCI-H23 šūnas | 305044

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

STR profils

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