

Komórki NCI-H23 | 305044

Informacje ogólne

Description	Linia ta została utworzona z tkanki raka płuc uzyskanej od 59-letniego czarnoskórego pacjenta z gruczolakorakiem płuc przed terapią. Komórki są nosicielami mutacji K-ras 12 i mutacji w kodonie 246 (ATC → ATG, izoleucyna → metionina) genu p53. Komórki wykazują ekspresję RNA C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras i N-ras. Linia komórkowa wykazuje heterogenną ekspresję mRNA dla łańcuchów PDGF A i B, transformującego czynnika wzrostu alfa i beta oraz receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). NCI-H23 wykazuje 20-krotnie wyższy poziom amplifikacji DNA c-myc bez wykrywalnej amplifikacji c-myc RNA. Komórki wybarwiają się pozytywnie na keratyny 5+8 i 18 oraz wimentynę, ale negatywnie na neurofilament. Komórki są ujemne pod względem dekarboksylazy L-dopa. Komórki mogą tworzyć kolonie w miękkiej agarozie z wydajnością 9,7%.
Organism	Człowiek
Tissue	Płuco
Disease	Gruczolakorak płuc
Metastatic site	Nie dotyczy (pierwotny gruczolakorak płuca; brak udokumentowanych przerzutów odległych w momencie ustalenia schematu leczenia)
Applications	Badania nad gruczolakorakiem płuc; biologia niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) z mutacją KRAS G12C; analiza szlaku EGFR; badania nad amplifikacją genu c-Myc; wrażliwość na leki (leki celowane, chemioterapia); badania z wykorzystaniem panelu NCI-60; sygnalizacja PDGF/TGF-β
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Charakterystyka

Age	51 lat
Gender	Mężczyzna
Ethnicity	Afrykański
Morphology	Nabłonek
Cell type	Komórki nabłonkowe
Growth properties	Adherent

Komórki NCI-H23 | 305044

Dane regulacyjne

Citation	NCI-H23 (numer katalogowy Cytion 305044)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1547
GMO Status	Brak modyfikacji genetycznych; linia komórkowa gruczolakoraka płuca typu dzikiego. Mutacje somatyczne (KRAS G12C, TP53 kodon 246) są zmianami endogennymi pochodzącymi z nowotworu.

Dane biomolekularne

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

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	38 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	od 1 do 3
Seeding density	od 1 do 3 × 10 ⁴ komórek/cm ²

Komórki NCI-H23 | 305044**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu należy wysiać komórki w gęstości 5×10^4 komórek/cm² i odczekać co najmniej 24 godziny, aż komórki przylgną, przed pierwszą wymianą pożywki.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

Komórki NCI-H23 | 305044**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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