

Bunky NCI-H23 | 305044**Všeobecné informácie**

Description	Táto línia bola vytvorená z tkaniva rakoviny pľúc získaného od 59-ročného černoškého pacienta s adenokarcinómom pľúc pred liečbou. Bunky nesú mutáciu K-ras 12 a mutáciu v kodóne 246 (ATC →ATG, izoleucín → metionín) génu p53. Bunky exprimujú RNA C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras a N-ras. Bunková línia má heterogénnu expresiu mRNA pre reťazec PDGF A a B, transformujúci rastový faktor alfa a beta a receptor epidermálneho rastového faktora (EGFR). NCI-H23 vykazuje 20-násobne vyššiu úroveň amplifikácie DNA c-myc bez zistiteľnej amplifikácie RNA c-myc. Bunky sa farbía pozitívne na keratíny 5+8 a 18 a vimentín, ale negatívne na neurofilament. Bunky sú negatívne na L-dopa dekarboxylázu. Bunky môžu vytvárať kolónie v mäkkej agaróze s účinnosťou 9,7 %.
Organism	Ľudské
Tissue	Pľúca
Disease	Adenokarcinóm pľúc
Metastatic site	Neplatí (primárny adenokarcinóm pľúc; v čase stanovenia liečebnej línie neboli zdokumentované žiadne vzdialené metastázy)
Applications	Výskum adenokarcinómu pľúc; biológia NSCLC s mutáciou KRAS G12C; analýza signálnej dráhy EGFR; štúdie amplifikácie génu c-Myc; citlivosť na liečbu (cieľové lieky, chemoterapia); výskum panelu NCI-60; signalizácia PDGF/TGF-β
Synonyms	NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Charakteristika

Age	51 rokov
Gender	Muži
Ethnicity	African
Morphology	Epitelové
Cell type	Epitelové bunky
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Bunky NCI-H23 | 305044**Citation** NCI-H23 (katalógové číslo Cytion 305044)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1547**GMO Status** Bez genetických modifikácií; bunková línia adenokarcinómu pľúc divokého typu. Somatické mutácie (KRAS G12C, TP53 kodón 246) sú endogénne zmeny pochádzajúce z nádoru.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** Myc+, src+, abl+, erb+, ras+, sis -**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 38 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Split ratio** 1 až 3**Seeding density** 1 až 3×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

Bunky NCI-H23 | 305044

Post-Thaw Recovery

Po rozmrazení naneste bunky na kultivačné misky v hustote 5×10^4 buniek/cm² a pred prvou výmenou živného média počkajte aspoň 24 hodín, aby sa bunky priľnuli.

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

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

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza**Sterility**

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile

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