

Celice NCI-H23 | 305044

Splošne informacije

Description Ta linija je bila vzpostavljena iz tkiva pljučnega raka, pridobljenega od 59-letnega temnopoltega moškega bolnika s pljučnim adenokarcinomom pred zdravljenjem. Celice nosijo mutacijo K-ras 12 in mutacijo v kodonu 246 (ATC → ATG, izolevcin → metionin) gena p53. Celice izražajo RNK C-myc, L-myc, v-src, v-abl, v-erb B, c-raf 1, Ha-ras, Ki-ras in N-ras. Celična linija ima heterogeno izražanje mRNA za verigi PDGF A in B, transformacijska rastna faktorja alfa in beta ter receptor za epidermalni rastni faktor (EGFR). NCI-H23 ima 20-krat višjo stopnjo pomnožitve DNK c-myc brez zaznavne pomnožitve RNK c-myc. Celice se pozitivno obarvajo za keratine 5+8 in 18 ter vimentin, negativno pa za nevofilament. Celice so negativne na L-dopa dekarboksilazo. Celice lahko tvorijo kolonije v mehki agarozni z učinkovitostjo 9,7 %.

Organism Človek

Tissue Pljuča

Disease Pljučni adenokarcinom

Metastatic site Ne velja (primarni pljučni adenokarcinom; ob začetku zdravljenja ni bilo dokumentiranih oddaljenih metastaz)

Applications Raziskave adenokarcinoma pljuč; biologija nepljučnega malignega karcinoma (NSCLC) z mutacijo KRAS G12C; analiza signalne poti EGFR; študije amplifikacije c-Myc; občutljivost na zdravila (ciljna zdravila, kemoterapija); raziskave na panelu NCI-60; signalizacija PDGF/TGF-β

Synonyms NCI-H23, NCI.H23, NCI H23 , H-23, NCIH23

Značilnosti

Age 51 let

Gender Moški

Ethnicity Afriški

Morphology Epitelijski

Cell type Epitelijske celice

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Celice NCI-H23 | 305044

Citation NCI-H23 (katalogska številka Cytion 305044)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1547**GMO Status** Brez genskih sprememb; celična linija divjega tipa pljučnega adenokarcinoma. Somatske mutacije (KRAS G12C, TP53 kodon 246) so endogene spremembe, ki izvirajo iz tumorja.

Biomolekularni podatki

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

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 38 ur**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekritje z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Split ratio** 1 do 3**Seeding density** 1 do 3×10^4 celic/cm²**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden

Celice NCI-H23 | 305044**Post-Thaw
Recovery**

Po odmrznitvi celice razporedite po ploščah v gostoti 5×10^4 celic/cm² in jim pred prvo zamenjavo gojišča pustite vsaj 24 ur časa za prirast.

**Freeze
medium**

Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO₂, vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

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

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viala nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Shipping
Conditions**

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viala nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje viala postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza**Sterility**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

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