

Клетки NCI-H2122 | 305600

Обща информация

Description

Клетъчната линия NCI-H2122 е модел на човешки недребноклетъчен рак на белия дроб (НДКБД), получен от пациент с аденокарцином. Тя се отличава с това, че е носител на мутацията KRAS G12C, отличителен белег на NSCLC, която води до конститутивно активиране на сигналния път MAPK. Тази клетъчна линия се използва широко в проучвания, насочени към терапевтични интервенции, насочени към KRAS G12C и свързаните с него пътища надолу по веригата, особено тези, включващи инхибитори на MEK и ERK. Изследванията, в които се използва NCI-H2122, подчертават ролята ѝ за разбиране на механизмите на лекарствена резистентност и за оптимизиране на комбинираните терапии.

Предклиничните проучвания, използващи клетъчната линия NCI-H2122, демонстрират нейната полезност за изследване на резистентността към инхибитори на MAPK пътя. Например подходите за CRISPR скрининг са идентифицирали MAPK7 (ERK5) като критичен медиатор за реактивиране на пътя след инхибиране на MEK, което предполага потенциални комбинирани стратегии, използващи инхибитори на MEK като кобиметиниб и инхибитори на MAPK7. Линията служи и като модел за оценка на ефикасността на инхибитори с малки молекули, включително такива, насочени към PI3K и BRAF, които са подходящи в комбинация с KRAS-специфични лечения.

NCI-H2122 се използва и за изследване на метаболитните уязвимости при NSCLC. Проучванията показват, че биосинтезата на серина и фолатният цикъл са метаболитни пътища, които допринасят за резистентността към целеви терапии, като например инхибитори на BRAF. Върху тази клетъчна линия са тествани метаболитни модулатори като метотрексат и стратегии за лишаване от серин, което дава представа за преодоляване на лекарствената резистентност и идентифициране на нови метаболитни цели за терапевтично използване.

Organism

Човек

Tissue

Бял дроб

Disease

Аденокарцином

Metastatic site

Плеврален излив

Synonyms

H2122, H-2122, NCIH2122

Характеристики

Age

46 години

Gender

Жена

Ethnicity

Кавказки

Morphology

Епителиални, лимфобластни

Клетки NCI-H2122 | 305600

Growth properties Прилепване/суспензия

Регулаторни данни

Citation NCI-H2122 (каталожен номер 305600 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1531

Биомолекулярни данни

Mutational profile Мутация: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), хомозиготен; Мутация: TP53, p.Gln16Leu (c.47A>T), хетерозиготен; Мутация: TP53, p.Cys176Phe (c.527G>T), хетерозиготна

Работа с

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с TrypLE Express, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Fluid renewal 2 до 3 пъти седмично

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H2122 | 305600

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H2122 | 305600

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.