

Buňky NCI-H2122 | 305600

Obecné informace

Description

Buněčná linie NCI-H2122 je model lidského nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) odvozený od pacienta s adenokarcinomem. Vyznačuje se tím, že je nositelem mutace KRAS G12C, která je charakteristickým znakem NSCLC a vede ke konstitutivní aktivaci signální dráhy MAPK. Tato buněčná linie je hojně využívána ve studiích zaměřených na terapeutické zásahy zaměřené na KRAS G12C a související následné dráhy, zejména ty, které zahrnují inhibitory MEK a ERK. Výzkum využívající NCI-H2122 zdůraznil její úlohu při pochopení mechanismů rezistence vůči lékům a při optimalizaci kombinovaných terapií.

Předklinické studie využívající buněčnou linii NCI-H2122 prokázaly její užitečnost při zkoumání rezistence vůči inhibitorům dráhy MAPK. Například screeningové přístupy CRISPR identifikovaly MAPK7 (ERK5) jako kritický mediátor reaktivity dráhy po inhibici MEK, což naznačuje potenciální kombinační strategie využívající inhibitory MEK, jako je kobimetinib, a inhibitory MAPK7. Tato linie rovněž slouží jako model pro hodnocení účinnosti inhibitorů malých molekul, včetně inhibitorů zaměřených na PI3K a BRAF, které jsou relevantní v kombinaci s léčbou specifickou pro KRAS.

Linie NCI-H2122 se rovněž používá při zkoumání metabolických zranitelností u NSCLC. Studie ukázaly, že biosyntéza serinu a folátový cyklus jsou metabolické dráhy, které přispívají k rezistenci vůči cílené léčbě, jako jsou inhibitory BRAF. Na této buněčné linii byly testovány metabolické modulatory, jako je methotrexát, a strategie deprivace serinu, což poskytlo poznatky o překonávání rezistence k lékům a identifikaci nových metabolických cílů pro terapeutické využití.

Organism

Člověk

Tissue

Plíce

Disease

Adenokarcinom

Metastatic site

Pleurální výpotek

Synonyms

H2122, H-2122, NCIH2122

Charakteristika

Age

46 let

Gender

Ženy

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

Epitelové, lymfoblastové

Buňky NCI-H2122 | 305600

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

NCI-H2122 (katalogové číslo Cytion 305600)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

CellosaurusAccession

CVCL_1531

Biomolekulární data

Mutational profile

Mutace: Gly12Cys (c.34G>T), homozygotní; Mutace: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozygotní; TP53, p.Gln16Leu (c.47A>T), heterozygotní; Mutace: p.Gln16Leu (c.47A>T), heterozygotní; TP53, p.Cys176Phe (c.527G>T), heterozygotní

Zpracování

Culture Medium

RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem TrypLE Express, a to 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio

Pro běžné kultivace se doporučuje poměr 1:3 až 1:4.

Fluid renewal

2 až 3krát týdně

Buňky NCI-H2122 | 305600

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCI-H2122 | 305600

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.