

Buňky NCI-H322 | 305839

Obecné informace

Description

NCI-H322 je lidská buněčná linie nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) odvozená od dospělého pacienta s bronchioalveolárním karcinomem, což je histologický podtyp adenokarcinomu. Tato buněčná linie byla vytvořena oddělením lékařské onkologie NCI-Navy v rámci komplexního úsilí o vytvoření klinicky anotovaných modelů karcinomu plic pro výzkum a vývoj léčebných postupů. NCI-H322 vykazuje adherentní epiteliální morfologii in vitro a obvykle se udržuje v médiu RPMI-1640 doplněném 10% fetálním hovězím sérem za standardních podmínek kultivace buněk.

Molekulární profilování NCI-H322 ukazuje, že je nositelem mutace KRAS, která přispívá k onkogenní signalizaci prostřednictvím drah MAPK/ERK a PI3K/AKT. Tato mutace činí buněčnou linii rezistentní vůči terapii cílené na EGFR a je vhodná pro studie zaměřené na plicní adenokarcinom řízený KRAS. Kromě toho je tato linie divokého typu pro EGFR a TP53, což nabízí definovaný genetický kontext pro zkoumání biologie nádorů závislých na KRAS. Její transkripční a proteomické údaje byly zahrnuty do rozsáhlých souborů dat, jako je Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), kde přispěla k analýzám zranitelnosti specifické pro danou linii a vzorců odpovědi na léčiva.

NCI-H322 byla hojně využívána ve farmakologickém screeningu a mechanistických studiích ke zkoumání citlivosti na inhibitory MEK, inhibitory dráhy PI3K a chemoterapeutika. Jeho konzistentní výkonnost napříč studiemi a dobře zdokumentovaný mutační profil z něj činí cenný preklinický model pro NSCLC s mutací KRAS a také klíčovou referenci v úsilí o pochopení heterogenity nádorů a rezistence na léky u plicního adenokarcinomu.

Organism	Člověk
Tissue	Plíce
Disease	Minimálně invazivní adenokarcinom plic
Synonyms	H322, H-322, H322T, NCI-H322T, NCIH322T, NCI-322, NCIH322

Charakteristika

Age	52 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Cell type	Klubové buňky
Growth properties	Adherentní

Buňky NCI-H322 | 305839

Regulační údaje

Citation NCI-H322 (katalogové číslo Cytion 305839)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1556

Biomolekulární data

Mutational profile Mutace: (PubMed=1311061, PubMed=1565469, PubMed=10536175, PubMed=20557307).

Zpracování

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

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 50

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.

Buňky NCI-H322 | 305839**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 odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte 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.

**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.

Buňky NCI-H322 | 305839

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 / Genetický profil / HLA

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 vizuálním kontrolám.