Product sheet

NCI-H322-Zellen | 305839

Allgemeine Informationen

Description	NCI-H322 ist eine menschliche Zelllinie für nicht-kleinzelligen Lungenkrebs (NSCLC), die von einem erwachsenen Patienten mit einem bronchioalveolären Karzinom, einem histologischen Subtyp des Adenokarzinoms, stammt. Diese Zelllinie wurde von der NCI-Navy Medical Oncology Branch im Rahmen eines umfassenden Projekts zur Entwicklung von klinischen Lungenkrebsmodellen für die Forschung und therapeutische Entwicklung entwickelt. NCI-H322 zeigt in vitro eine adhärente epitheliale Morphologie und wird in der Regel in RPMI-1640-Medium mit 10 % fötalem Rinderserum unter Standardzellkulturbedingungen gehalten. Die molekulare Profilierung von NCI-H322 zeigt, dass sie eine KRAS-Mutation trägt, die zur onkogenen Signalübertragung über die MAPK/ERK- und PI3K/AKT-Signalwege beiträgt. Diese Mutation macht die Zelllinie resistent gegen EGFR-gerichtete Therapien und macht sie geeignet für Studien, die sich auf KRAS-gesteuerte Lungenadenokarzinome konzentrieren. Darüber hinaus ist die Linie Wildtyp für EGFR und TP53 und bietet damit einen definierten genetischen Kontext für die Untersuchung der KRAS-abhängigen Tumorbiologie. Ihre Transkriptions- und Proteomdaten wurden in groß angelegte Datensätze wie die Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) aufgenommen, wo sie zur Analyse von stammesspezifischen Schwachstellen und Ansprechmustern auf Medikamente beigetragen hat. NCI-H322 wurde ausgiebig in pharmakologischen Screenings und mechanistischen Studien eingesetzt, um die Empfindlichkeit gegenüber MEK-Inhibitoren, PI3K-Signalweg-Inhibitoren und Chemotherapeutika zu untersuchen. Seine konsistente Leistung in allen Studien und sein gut dokumentiertes Mutationsprofil machen es zu einem wertvollen präklinischen Modell für KRAS-mutierten NSCLC sowie zu einer wichtigen Referenz bei den Bemühungen, die Tumorheterogenität und Arzneimittelresistenz bei Lungenadenokarzinomen zu verstehen.
Organism	Menschen
Tissue	Lunge
Disease	Minimalinvasives Adenokarzinom der Lunge
Synonyms	H322, H-322, H322T, NCI-H322T, NCIH322T, NCI-322, NCIH322

Merkmale

Age	52 Jahre
Gender	Männlich
Ethnicity	Kaukasisch
Cell type	Clubzellen

NCI-H322-Zellen | 305839

Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

Citation	NCI-H322 (Cytion-Katalognummer 305839)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1556

Biomolekulare Daten

Mutational profile	Mutation: TP53, Einfach, p.Arg248Leu (c.743G>T), Homozygot (PubMed=1311061, PubMed=1565469, PubMed=10536175, PubMed=20557307).

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820700a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	50
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

NCI-H322-Zellen | 305839

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.

2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.

3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.

4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.

5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.

6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.

7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.

8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.