Product sheet

Κύτταρα NCI-H322 | 305839

Γενικές πληροφορίες

Description	Η NCI-H322 είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC) που προέρχεται από ενήλικα ασθενή με βρογχοκυψελιδικό καρκίνωμα, έναν ιστολογικό υπότυπο αδενοκαρκινώματος. Αυτή η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε από τον κλάδο ιατρικής ογκολογίας του NCI-Navy ως μέρος μιας συνολικής προσπάθειας για τη δημιουργία κλινικά σχολιασμένων μοντέλων καρκίνου του πνεύμονα για την έρευνα και τη θεραπευτική ανάπτυξη. Το NCI-H322 παρουσιάζει προσκολλημένη επιθηλιακή μορφολογία in vitro και συνήθως διατηρείται σε μέσο RPMI-1640 συμπληρωμένο με 10% εμβρυϊκό ορό βοοειδών υπό τυπικές συνθήκες κυτταροκαλλιέργειας. Η μοριακή σκιαγράφηση του NCI-H322 αποκαλύπτει ότι φέρει μετάλλαξη KRAS, η οποία συμβάλλει στην ογκογόνο σηματοδότηση μέσω των μονοπατιών MAPK/ERK και PI3K/AKT. Η μετάλλαξη αυτή καθιστά την κυτταρική σειρά ανθεκτική στις θεραπείες που στοχεύουν στον EGFR και την καθιστά κατάλληλη για μελέτες που επικεντρώνονται στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα που οφείλεται στο KRAS. Επιπλέον, η σειρά είναι άγριου τύπου για τον EGFR και το TP53, προσφέροντας ένα καθορισμένο γενετικό πλαίσιο για την ανάλυση της βιολογίας των όγκων που εξαρτώνται από το KRAS. Τα μεταγραφικά και πρωτεομικά δεδομένα της έχουν συμπεριληφθεί σε σύνολα δεδομένων μεγάλης κλίμακας, όπως η εγκυκλοπαίδεια καρκινικών κυτταρικών γραμμών (Cancer Cell Line Encyclopedia - CCLE), όπου έχει συμβάλει σε αναλύσεις των ειδικών ευπαθειών της γραμμής και των μοτίβων απόκρισης στα φάρμακα. Το NCI-H322 έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε φαρμακολογική διαλογή και μηχανιστικές μελέτες για τη διερεύνηση της ευαισθησίας σε αναστολείς της MEK, αναστολείς της οδού PI3K και χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Η συνεπής απόδοσή του σε όλες τις μελέτες και το καλά τεκμηριωμένο προφίλ μεταλλάξεων το καθιστούν ένα πολύτιμο προκλινικό μοντέλο για τον μεταλλαγμένο κατά KRAS NSCLC, καθώς και ένα βασικό σημείο αναφοράς στις προσπάθειες κατανόησης της ετερογένειας του όγκου και της αντίστασης στα φάρμακα στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Πνεύμονας
Disease	Ελάχιστα διεισδυτικό αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα
Synonyms	H322, H-322, H322T, NCI-H322T, NCIH322T, NCI-322, NCIH322

Χαρακτηριστικά

Age	52 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Cell type	Κύτταρα λέσχης

Κύτταρα NCI-H322 | 305839

Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Mutational profile	Μετάλλαξη: (c.743G>T), ομόζυγος (PubMed=1311061, PubMed=1565469, PubMed=10536175, PubMed=20557307).

Χειρισμός

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO3 (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	50
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα NCI-H322 | 305839

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα NCI-H322 | 305839

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.