

NCI-H2122 rakud | 305600

Üldine teave

Description

NCI-H2122 rakuliin on inimese mitteväikerakk-kopsuvähi (NSCLC) mudel, mis on saadud adenokartsinoomiga patsiendilt. See on tähelepanuväärne selle poolest, et selles on KRAS G12C mutatsioon, mis on NSCLC tunnusjoon, mis viib MAPK-signaaltee konstitutiivsele aktiveerimisele. Seda rakuliini kasutatakse laialdaselt uuringutes, mis keskenduvad KRAS G12C ja sellega seotud allavoolu radadele suunatud terapeutilistele sekkumistele, eelkõige MEK- ja ERK-inhibiitoritega seotud uuringutele. NCI-H2122 kasutades tehtud uuringud on rõhutanud selle rolli ravimresistentsuse mehhanismide mõistmisel ja kombinatsiooniteraapiate optimeerimisel.

NCI-H2122 rakuliini kasutamise teatud prekliinilised uuringud on näidanud selle kasulikkust MAPK raja inhibiitorite suhtes resistentsuse uurimisel. Näiteks on CRISPR-skriiningu meetoditega tuvastatud MAPK7 (ERK5) kui MEK inhibeerimise järgse raja aktiveerimise kriitiline vahendaja, mis viitab võimalikele kombineeritud strateegiatele, milles kasutatakse MEK-inhibiitoreid, nagu kobimetiniib, ja MAPK7 inhibiitoreid. See liin toimib ka mudelina väikeste molekulide inhibiitorite, sealhulgas PI3K-le ja BRAF-le suunatud inhibiitorite tõhususe hindamiseks, mis on olulised kombinatsioonis KRAS-spetsiifiliste ravimeetoditega.

NCI-H2122 kasutatakse ka NSCLC metaboolsete haavatavuste uurimisel. Uuringud on näidanud, et seriini biosüntees ja folaatsükkel on metaboolsed teed, mis aitavad kaasa resistentsusele suunatud ravimeetodite, näiteks BRAF-inhibiitorite suhtes. Metaboolseid modulaatoreid, nagu metotreksaat ja seriini puudumise strateegiad, on katsetatud selle rakuliini peal, mis annab ülevaate ravimresistentsuse ületamisest ja uute metaboolsete sihtmärkide tuvastamisest raviks.

Organism	Inimene
Tissue	Kopsud
Disease	Adenokartsinoom
Metastatic site	Pleuraefusioon
Synonyms	H2122, H-2122, NCIH2122

Omadused

Age	46 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed, lümfoblastilaadsed

NCI-H2122 rakud | 305600

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation NCI-H2122 (Cytioni katalooginumber 305600)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1531

Biomolekulaarsed andmed

Mutational profile Mutatsioon: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homosügootne; Mutatsioon: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homosügootne; TP53, p.Gln16Leu (c.47A>T), heterosügootne; Mutatsioon: TP53, p.Cys176Phe (c.527G>T), heterosügootne

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult TrypLE Expressiga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeeruda 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio Rutiinse kultuuri jaoks soovitatakse suhet 1:3 kuni 1:4.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

NCI-H2122 rakud | 305600

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja kohe kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H2122 rakud | 305600

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.