

NCI-H322-solut | 305839

Yleisiä tietoja

Description

NCI-H322 on ihmisen ei-pienisoluisen keuhkosyövän (NSCLC) solulinja, joka on peräisin aikuispotilaalta, jolla on bronkioalveolaarinen karsinoma, adenokarsinoman histologinen alatyppi. Tämän solulinjan perusti NCI-Navy Medical Oncology Branch osana kattavaa pyrkimystä luoda kliinisesti merkittäviä keuhkosyöpämalleja tutkimusta ja terapeutista kehitystä varten. NCI-H322:lla on tarttuva epiteelimorfologia in vitro, ja sitä ylläpidetään tavallisesti RPMI-1640-mediassa, jota on täydennetty 10 %:lla naudan sikiöseerumilla, tavanomaisissa soluviljelyolosuhteissa.

NCI-H322:n molekyyliprofilointi paljastaa, että siinä on KRAS-mutaatio, joka vaikuttaa onkogeeneeseen signaalointiin MAPK/ERK- ja PI3K/AKT-reittien kautta. Tämä mutaatio tekee solulinjasta vastustuskykyisen EGFR:ään kohdistuville hoidoille ja tekee siitä sopivan KRAS-ohjattuun keuhkojen adenokarsinomaan keskittyviin tutkimuksiin. Lisäksi linja on villityyppinen EGFR:n ja TP53:n suhteen, mikä tarjoaa määritellyn geneettisen kontekstin KRAS-riippuvaisen kasvainbiologian selvittämiseksi. Sen transkriptio- ja proteomitiedot on sisällytetty laajamittaisiin tietokokonaisuuksiin, kuten Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE) -tietokantaan, jossa se on osallistunut linjakohtaisten haavoittuvuuksien ja lääkevasteiden analysointiin.

NCI-H322:ta on käytetty laajasti farmakologisessa seulonnassa ja mekanistisissa tutkimuksissa, joissa on tutkittu herkkyyttä MEK:n estäjille, PI3K-reitin estäjille ja kemoterapeuttisille aineille. Sen johdonmukainen suorituskyky eri tutkimuksissa ja hyvin dokumentoitu mutaatioprofiili tekevät siitä arvokkaan prekliinisen mallin KRAS-mutanttien aiheuttamalle NSCLC:lle sekä keskeisen vertailukohteen pyrittäessä ymmärtämään kasvaimen heterogeenisuutta ja lääkeresistenssiä keuhkojen adenokarsinomassa.

Organism Ihminen

Tissue Keuhkot

Disease Minimaalisesti invasiivinen keuhkojen adenokarsinoma

Synonyms H322, H-322, H322T, NCI-H322T, NCIH322T, NCI-322, NCIH322, NCIH322

Ominaisuudet

Age 52 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Cell type Klubin solut

Growth properties Tarttuva

NCI-H322-solut | 305839

Säätelytiedot

Citation	NCI-H322 (Cytionin luettelonumero 305839)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1556

Biomolekyyli tiedot

Mutational profile	Mutaatio: TP53, yksinkertainen, p.Arg248Leu (c.743G>T), homotsygoottinen (PubMed=1311061, PubMed=1565469, PubMed=10536175, PubMed=20557307).
---------------------------	--

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	50
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NCI-H322-solut | 305839

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCI-H322-solut | 305839

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.