

NCI-H2122 sejtek | 305600

Általános információk

Description

Az NCI-H2122 sejtvonal egy emberi nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) modell, amely egy adenokarcinómás betegből származik. Különlegessége, hogy a KRAS G12C mutációt hordozza, amely az NSCLC egyik jellemzője, és a MAPK jelátviteli útvonal konstitutív aktiválódásához vezet. Ezt a sejtvonalat széles körben használják a KRAS G12C-t és a kapcsolódó downstream útvonalakat célzó terápiás beavatkozásokra összpontosító vizsgálatokban, különösen a MEK- és ERK-gátlókat érintő vizsgálatokban. Az NCI-H2122-t használó kutatások rávilágítottak annak szerepére a gyógyszerrezisztencia mechanizmusainak megértésében és a kombinált terápiák optimalizálásában.

Az NCI-H2122 sejtvonalon végzett preklinikai vizsgálatok bizonyították, hogy az NCI-H2122 hasznos a MAPK-útvonal gátlóival szembeni rezisztencia feltárásában. A CRISPR-szűrési megközelítések például a MEK-gátlást követően a MAPK7-et (ERK5) az útvonal reaktiválásának kritikus közvetítőjeként azonosították, ami a MEK-gátlók, például a kobimetinib és a MAPK7-gátlók felhasználásával lehetséges kombinációs stratégiákra utal. A vonal modellként is szolgál a KRAS-specifikus kezelésekkel kombinálva releváns kis molekulájú gátlók hatékonyságának értékeléséhez, beleértve a PI3K és BRAF ellen ható gátlókat is.

Az NCI-H2122-t az NSCLC metabolikus sebezhetőségének vizsgálatában is alkalmazzák. A vizsgálatok szerint a szerin bioszintézis és a folsavciklus olyan metabolikus útvonalak, amelyek hozzájárulnak a célzott terápiákkal, például a BRAF-gátlókkal szembeni rezisztenciához. Ezen a sejtvonalon olyan anyagcsere-modulátorokat, mint a metotrexát és szerin-deprivációs stratégiákat teszteltek, amelyek betekintést nyújtanak a gyógyszerrezisztencia leküzdésébe és a terápiás célpontok azonosításába.

Organism	Emberi
Tissue	Tüdő
Disease	Adenokarcinóma
Metastatic site	Mellhártya folyadékgyülem
Synonyms	H2122, H-2122, NCIH2122

Jellemzők

Age	46 év
Gender	Női
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű, lymphoblastszerű

NCI-H2122 sejtek | 305600

Growth properties	Adherent
--------------------------	----------

Szabályozási adatok

Citation	NCI-H2122 (Cytion katalógusszám: 305600)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1531
-----------------------------	-----------

Biomolekuláris adatok

Mutational profile	Mutáció: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozigóta; Mutáció: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozigóta; TP53, p.Gln16Leu (c.47A>T), heterozigóta; Mutáció: TP53, p.Gln16Leu (c.47A>T), heterozigóta; Cys176Phe (c.527G>T), heterozigóta
---------------------------	---

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
-----------------------	---

Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen TrypLE Express-szel, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. Hagyjuk a sejteket 8-10 percig szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuspendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

Split ratio	Rutin tenyésztéshez 1:3–1:4 arányt javasolunk.
--------------------	--

Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
----------------------	------------------------

NCI-H2122 sejtek | 305600

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCI-H2122 sejtek | 305600

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.