

NCI-H2122 šūnas | 305600

Vispārīga informācija

Description

NCI-H2122 šūnu līnija ir cilvēka nesmalto šūnu plaušu vēža (NSCLC) modelis, kas iegūts no adenokarcinomas pacienta. Tā izceļas ar to, ka tajā ir KRAS G12C mutācija, kas ir NSCLC raksturīga iezīme, kura izraisa konstitīvu MAPK signalizācijas ceļa aktivizāciju. Šī šūnu līnija tiek plaši izmantota pētījumos, kas vērsti uz terapeitiskām intervencēm, kas vērstas uz KRAS G12C un saistītajiem pakārtotajiem ceļiem, jo īpaši tiem, kas ietver MEK un ERK inhibitorus. Pētījumos, kuros izmanto NCI-H2122, ir uzsvērtas tās nozīme zāļu rezistences mehānismu izpratnē un kombinētās terapijas optimizēšanā.

Preklīniskie pētījumi, kuros izmantota NCI-H2122 šūnu līnija, ir pierādījuši tās lietderību, pētot rezistenci pret MAPK ceļa inhibitoriem. Piemēram, CRISPR skrīninga pieejas ir identificējušas MAPK7 (ERK5) kā kritiski svarīgu ceļa reaktivācijas mediatoru pēc MEK inhibīcijas, kas liecina par iespējamām kombinēšanas stratēģijām, izmantojot tādas MEK inhibitorus kā kobimetinibs un MAPK7 inhibitorus. Šī līnija kalpo arī kā modelis mazu molekulu inhibitoru efektivitātes novērtēšanai, tostarp tādu, kas vērsti pret PI3K un BRAF, kas ir svarīgi kombinācijā ar KRAS specifisku ārstēšanu.

NCI-H2122 tiek izmantota arī NSCLC metabolisko ievainojamību izpētei. Pētījumos serīna biosintēze un folātu cikls ir norādīti kā metabolisma ceļi, kas veicina rezistenci pret mērķterapiju, piemēram, BRAF inhibitoriem. Šai šūnu līnijai ir pārbaudīti tādi metabolisma modulatori kā metotretsāts un serīna deprivācijas stratēģijas, kas sniedz ieskatu par zāļu rezistences pārvarēšanu un jaunu metabolisma mērķu identificēšanu terapeitiskai izmantošanai.

Organism Cilvēks

Tissue Plaušas

Disease Adenokarcinoma

Metastatic site Pleiras izsvīdums

Synonyms H2122, H-2122, H-2122, NCIH2122

Raksturojums

Age 46 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Morphology Epitēlijveida, limfoblastveida

NCI-H2122 šūnas | 305600

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

Normatīvie dati

Citation	NCI-H2122 (Cytion kataloga numurs 305600)
-----------------	---

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

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

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

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Mutācija: Gly12Cys (c.34G>T), homozigotiska; Mutācija: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozigotiska; Mutācija: TP53, p.Gln16Leu (c.47A>T), heterozigotiska; mutācija: TP53, p.Cys176Phe (c.527G>T), heterozigotiska
---------------------------	--

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

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

Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar TrypLE Express, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	---

Split ratio	Parastajai kultivēšanai ieteicams izmantot proporciju no 1:3 līdz 1:4.
--------------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
----------------------	------------------------

NCI-H2122 šūnas | 305600

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCI-H2122 šūnas | 305600

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.