Product sheet

NCI-H322 šūnas | 305839

Vispārīga informācija

Description	NCI-H322 ir cilvēka nesmalikocelulārā plaušu vēža (NSCLC) šūnu līnija, kas iegūta no pieauguša pacienta ar bronhiolārijas karcinomu, kas ir adenokarcinomas histoloģiskais apakštips. Šo šūnu līniju izveidoja NCI un Jūras kara flotes Medicīniskās onkoloģijas filiāle kā daļu no visaptverošiem centieniem radīt klīniski anotētus plaušu vēža modeļus pētniecībai un terapijas izstrādei. NCI-H322 in vitro uzrāda adherētu epitēlija morfoloģiju un parasti tiek uzturēta RPMI-1640 barotnē, kas papildināta ar 10 % fetālā liellopu seruma standarta šūnu kultūras apstākļos. NCI-H322 molekulārā profilēšana atklāj, ka tajā ir KRAS mutācija, kas veicina onkogēno signalizāciju, izmantojot MAPK/ERK un PI3K/AKT ceļus. Šī mutācija padara šūnu līniju rezistentu pret EGFR mērķētu terapiju un padara to piemērotu pētījumiem, kas vērsti uz KRAS izraisītu plaušu adenokarcinomu. Turklāt šī līnija ir EGFR un TP53 savvaļas tipa, kas nodrošina noteiktu ģenētisko kontekstu KRAS atkarīgu audzēju bioloģijas izpētei. Tās transkripcijas un proteomikas dati ir iekļauti plaša mēroga datu kopās, piemēram, Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), kur tā ir palīdzējusi analizēt līnijai raksturīgo ievainojamību un reakcijas uz zālēm modeļus. NCI-H322 ir plaši izmantots farmakoloģiskajā skrīningā un mehānistiskajos pētījumos, lai izpētītu jutību pret MEK inhibitoriem, PI3K ceļa inhibitoriem un ķīmijterapijas līdzekļiem. Tā konsekventā veiktspēja dažādos pētījumos un labi dokumentētais mutāciju profils padara to par vērtīgu KRAS-mutantu NSCLC preklīnisko modeli, kā arī par galveno references paraugu, lai izprastu plaušu adenokarcinomas audzēju heterogenitāti un rezistenci pret zālēm.
Organism	Cilvēks
Tissue	Plaušas
Disease	Minimāli invazīva plaušu adenokarcinoma
Synonyms	H322, H-322, H322T, NCI-H322T, NCIH322T, NCI-322, NCIH-322, NCIH322

Raksturojums

Age	52 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Cell type	Kluba šūnas
Growth properties	Adherent

Product sheet

NCI-H322 šūnas | 305839

Normatīvie dati

Citation	NCI-H322 (Cytion kataloga numurs 305839)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1556

Biomolekulārie dati

Mutational profile	Mutācija: TP53, vienkārša, p.Arg248Leu (c.743G>T), homozigotiska (PubMed=1311061, PubMed=1565469, PubMed=10536175, PubMed=20557307).

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	50
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.

NCI-H322 šūnas | 305839

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 °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 x 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% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.