Product sheet

NCI-H322-celler | 305839

Generell informasjon

Description	NCI-H322 er en human ikke-småcellet lungekreftcellelinje (NSCLC) som stammer fra en voksen pasient med bronkioalveolært karsinom, en histologisk undertype av adenokarsinom. Denne cellelinjen ble etablert av NCI-Navy Medical Oncology Branch som en del av en omfattende innsats for å generere klinisk annoterte lungekreftmodeller for forskning og terapeutisk utvikling. NCI-H322 har en adherente epitelmorfologi in vitro og holdes vanligvis i RPMI-1640-medium supplert med 10 % føtalt bovint serum under standard cellekulturbetingelser. Molekylær profilering av NCI-H322 viser at den bærer en KRAS-mutasjon, som bidrar til onkogen signalering gjennom MAPK/ERK- og PI3K/AKT-veiene. Denne mutasjonen gjør cellelinjen resistent mot EGFR-rettet behandling og gjør den egnet for studier med fokus på KRAS-drevet lungeadenokarsinom. I tillegg er cellelinjen villtype for EGFR og TP53, noe som gir en definert genetisk kontekst for dissekering av KRAS-avhengig tumorbiologi. Transkripsjons- og proteomdata fra linjen har blitt inkludert i store datasett som Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), der den har bidratt til analyser av linjespesifikke sårbarheter og responsmønstre på legemidler. NCI-H322 har blitt brukt i utstrakt grad i farmakologisk screening og mekanistiske studier for å undersøke sensitivitet for MEK-hemmere, PI3K-hemmere og kjemoterapeutiske midler. NCI-H322 har konsistente resultater på tvers av studier og en veldokumentert mutasjonsprofil som gjør den til en verdifull preklinisk modell for KRAS-mutert NSCLC, samt en viktig referanse i arbeidet med å forstå tumorheterogenitet og legemiddelresistens i lungeadenokarsinom.
Organism	Menneskelig
Tissue	Lunge
Disease	Minimalt invasivt adenokarsinom i lungene
Synonyms	H322, H-322, H322T, NCI-H322T, NCIH322T, NCI-322, NCIH322

Kjennetegn

Age	52 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Cell type	Klubbceller
Growth properties	Vedhengende

NCI-H322-celler | 305839

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Mutational profile	Mutasjon: TP53, enkel, p.Arg248Leu (c.743G>T), homozygot (PubMed=1311061, PubMed=1565469, PubMed=10536175, PubMed=20557307).

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	50
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.