

Células NCI-H322 | 305839**Informações gerais****Description**

A NCI-H322 é uma linha celular humana de cancro do pulmão de células não pequenas (NSCLC) derivada de um doente adulto com um carcinoma bronquioalveolar, um subtipo histológico de adenocarcinoma. Esta linha celular foi estabelecida pelo NCI-Navy Medical Oncology Branch como parte de um esforço abrangente para gerar modelos de cancro do pulmão clinicamente anotados para investigação e desenvolvimento terapêutico. A NCI-H322 apresenta uma morfologia epitelial aderente in vitro e é normalmente mantida em meio RPMI-1640 suplementado com 10% de soro fetal bovino em condições normais de cultura de células.

O perfil molecular da linhagem NCI-H322 revela que esta é portadora de uma mutação KRAS, que contribui para a sinalização oncogénica através das vias MAPK/ERK e PI3K/AKT. Esta mutação torna a linha celular resistente a terapias direcionadas para o EGFR e torna-a adequada para estudos centrados no adenocarcinoma do pulmão com KRAS. Além disso, a linha é do tipo selvagem para EGFR e TP53, oferecendo um contexto genético definido para dissecar a biologia tumoral dependente de KRAS. Os seus dados transcricionais e proteómicos foram incluídos em conjuntos de dados de grande escala, como a Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), onde contribuiu para a análise das vulnerabilidades específicas da linhagem e dos padrões de resposta aos medicamentos.

A linhagem NCI-H322 tem sido amplamente utilizada no rastreio farmacológico e em estudos mecanicistas para explorar a sensibilidade aos inibidores da MEK, aos inibidores da via PI3K e aos agentes quimioterapêuticos. O seu desempenho consistente em todos os estudos e o perfil de mutações bem documentado fazem dele um modelo pré-clínico valioso para o CPNPC com mutações KRAS, bem como uma referência fundamental nos esforços para compreender a heterogeneidade tumoral e a resistência aos medicamentos no adenocarcinoma do pulmão.

Organism Humano**Tissue** Pulmão**Disease** Adenocarcinoma pulmonar minimamente invasivo**Synonyms** H322, H-322, H322T, NCI-H322T, NCIH322T, NCI-322, NCIH322**Caraterísticas****Age** 52 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Cell type** Células de clube

Células NCI-H322 | 305839

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dados regulamentares

Citation	NCI-H322 (número de catálogo Cytion 305839)
-----------------	---

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

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

CellosaurusAccession	CVCL_1556
-----------------------------	-----------

Dados biomoleculares

Mutational profile	Mutação: TP53, Simples, p.Arg248Leu (c.743G>T), Homozigótico (PubMed=1311061, PubMed=1565469, PubMed=10536175, PubMed=20557307).
---------------------------	--

Manuseamento

Culture Medium	RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
--------------------	---------------------------------

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

Doubling time	50
----------------------	----

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.
----------------------	---

Células NCI-H322 | 305839

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células NCI-H322 | 305839

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.