

Bunky NCI-H2122 | 305600**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NCI-H2122 je model ľudského nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC) odvodený od pacienta s adenokarcinómom. Je pozoruhodná tým, že obsahuje mutáciu KRAS G12C, ktorá je charakteristickým znakom NSCLC a vedie ku konštitutívnej aktivácii signálnej dráhy MAPK. Táto bunková línia sa vo veľkej miere používa v štúdiách zameraných na terapeutické zásahy zamerané na KRAS G12C a súvisiace nadväzujúce dráhy, najmä tie, ktoré zahŕňajú inhibítory MEK a ERK. Výskum využívajúci NCI-H2122 zdôraznil jej úlohu pri pochopení mechanizmov rezistencie na lieky a pri optimalizácii kombinovaných terapií.

Predklinické štúdie využívajúce bunkovú líniu NCI-H2122 preukázali jej užitočnosť pri skúmaní rezistencie na inhibítory dráhy MAPK. Napríklad skriningové prístupy CRISPR identifikovali MAPK7 (ERK5) ako kritický mediátor reaktívácie dráhy po inhibícii MEK, čo naznačuje potenciálne kombinované stratégie využívajúce inhibítory MEK, ako je kobimetinib, a inhibítory MAPK7. Táto línia slúži aj ako model na hodnotenie účinnosti inhibítorov malých molekúl vrátane inhibítorov zameraných na PI3K a BRAF, ktoré sú relevantné v kombinácii s liečbou špecifickou pre KRAS.

NCI-H2122 sa využíva aj pri skúmaní metabolických zraniteľností v NSCLC. Štúdie poukázali na biosyntézu serínu a folátový cyklus ako metabolické dráhy, ktoré prispievajú k rezistencii voči cieľným terapiám, ako sú inhibítory BRAF. Na tejto bunkovej línii sa testovali metabolické modulátory, ako napríklad metotrexát a stratégie deprivácie serínu, čo poskytlo poznatky o prekonávaní rezistencie na lieky a identifikácii nových metabolických cieľov na terapeutické využitie.

Organism	Ľudské
Tissue	Pľúca
Disease	Adenokarcinóm
Metastatic site	Pleurálny výpotok
Synonyms	H2122, H-2122, NCIH2122

Charakteristika

Age	46 rokov
Gender	Ženy
Ethnicity	Kaukazský
Morphology	Epitelové, lymfoblastové

Bunky NCI-H2122 | 305600**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** NCI-H2122 (katalógové číslo Cytion 305600)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1531**Biomolekulárne údaje****Mutational profile** Mutácia: Gly12Cys (c.34G>T), homozygotná; Mutácia: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozygotná; TP53, p.Gln16Leu (c.47A>T), heterozygotná; mutácia: TP53, p.Cys176Phe (c.527G>T), heterozygotná**Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne zakryte prípravkom TrypLE Express, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Split ratio** Pre bežné kultivácie sa odporúča pomer 1:3 až 1:4.**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne

Bunky NCI-H2122 | 305600**Freeze medium**

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCI-H2122 | 305600

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.