Product sheet

Клітини NCI-H2122 | 305600

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія NCI-H2122 - це модель недрібноклітинного раку легенів людини (НДКРЛ), отримана від пацієнта з аденокарциномою. Вона відрізняється наявністю мутації KRAS G12C, характерної для недрібноклітинного раку легенів, яка призводить до конститутивної активації сигнального шляху MAPK. Ця клітинна лінія широко використовується в дослідженнях, спрямованих на терапевтичне втручання, спрямоване на KRAS G12C та пов'язані з ним шляхи, зокрема, інгібітори MEK та ERK. Дослідження з використанням NCI-H2122 підкреслили його роль у розумінні механізмів лікарської резистентності та в оптимізації комбінованої терапії. Доклінічні дослідження з використанням клітинної лінії NCI-H2122 продемонстрували її корисність у вивченні резистентності до інгібіторів шляху MAPK. Наприклад, підходи CRISPR-скринінгу визначили MAPK7 (ERK5) як критично важливий медіатор реактивації шляху після інгібування MEK, що дозволяє запропонувати потенційні комбіновані стратегії з використанням інгібіторів MEK, таких як кобіметиніб, та інгібіторів MAPK7. Лінія також слугує моделлю для оцінки ефективності низькомолекулярних інгібіторів, в тому числі тих, що націлені на PI3K та BRAF, які є актуальними у поєднанні з KRAS-специфічним лікуванням. NCI-H2122 також використовується для дослідження метаболічних вразливостей при НДКРЛ. Дослідження показали, що біосинтез серину та фолатний цикл є метаболічними шляхами, що сприяють резистентності до таргетної терапії, наприклад, інгібіторів BRAF. Метаболічні модулятори, такі як метотрексат і стратегії депривації серину, були протестовані на цій клітинній лінії, що дозволило отримати уявлення про подолання лікарської резистентності та виявити нові метаболічні мішені для терапевтичного використання.
Organism	Людина
Tissue	Легені
Disease	Аденокарцинома
Metastatic site	Плевральний випіт
Synonyms	H2122, H-2122, NCIH2122

Характеристики

Age	46 років
Gender	Жінка
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліоподібні, лімфобластоподібні

Клітини NCI-H2122 | 305600

Growth properties	Прихильник/призупинення

Нормативні дані

Citation	NCI-H2122 (номер за каталогом Cytion 305600)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1531

Біомолекулярні дані

Mutational profile	Мутація: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), гомозиготний; Мутація: TP53, p.Gln16Leu (c.47A>T), гетерозиготний; Мутація: TP53, p.Cys176Phe (c.527G>T), гетерозиготна

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини TrypLE Express, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини NCI-H2122 | 305600

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NCI-H2122 | 305600

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.