

Cellules NCI-H322 | 305839

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire NCI-H322 est une lignée cellulaire humaine de cancer du poumon à cellules non petites (CPNPC) dérivée d'un patient adulte atteint d'un carcinome bronchio-alvéolaire, un sous-type histologique de l'adénocarcinome. Cette lignée cellulaire a été établie par la Division d'oncologie médicale du NCI-Navy dans le cadre d'un effort global visant à générer des modèles de cancer du poumon annotés cliniquement à des fins de recherche et de développement thérapeutique. La lignée NCI-H322 présente une morphologie épithéliale adhérente in vitro et est généralement cultivée dans un milieu RPMI-1640 enrichi de 10 % de sérum foetal bovin, dans des conditions standard de culture cellulaire.

Le profilage moléculaire de la lignée NCI-H322 révèle qu'elle porte une mutation du gène KRAS, qui contribue à la signalisation oncogénique par l'intermédiaire des voies MAPK/ERK et PI3K/AKT. Cette mutation rend la lignée cellulaire résistante aux thérapies ciblant l'EGFR et la rend appropriée pour des études axées sur l'adénocarcinome pulmonaire induit par KRAS. De plus, la lignée est de type sauvage pour l'EGFR et le gène TP53, offrant ainsi un contexte génétique bien défini pour l'analyse de la biologie tumorale dépendante de KRAS. Ses données transcriptionnelles et protéomiques ont été intégrées à des ensembles de données à grande échelle tels que la Cancer Cell Line Encyclopedia (CCLE), où elles ont contribué à l'analyse des vulnérabilités spécifiques à la lignée cellulaire et des profils de réponse aux médicaments.

La lignée NCI-H322 a été largement utilisée dans le criblage pharmacologique et les études mécanistiques pour explorer la sensibilité aux inhibiteurs de MEK, aux inhibiteurs de la voie PI3K et aux agents chimiothérapeutiques. Ses performances constantes d'une étude à l'autre et son profil de mutations bien documenté en font un modèle préclinique précieux pour le CPNPC présentant une mutation du gène KRAS, ainsi qu'une référence clé dans les efforts visant à comprendre l'hétérogénéité tumorale et la résistance aux médicaments dans l'adénocarcinome du poumon.

Organism Humain

Tissue Poumon

Disease Adénocarcinome pulmonaire avec approche mini-invasive

Synonyms H322, H-322, H322T, NCI-H322T, NCIH322T, NCI-322, NCIH322

Caractéristiques

Age 52 ans

Gender Homme

Ethnicity caucasien

Cell type Cellules du club

Cellules NCI-H322 | 305839

Growth properties Adepte

Données réglementaires

Citation NCI-H322 (numéro de catalogue Cytion 305839)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1556

Données biomoléculaires

Mutational profile Mutation : TP53, simple, p.Arg248Leu (c.743G>T), homozygote (PubMed=1311061, PubMed=1565469, PubMed=10536175, PubMed=20557307).

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)

Supplements Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 50

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum foetal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules NCI-H322 | 305839

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à $300 \times g$ pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % de CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'entreposage à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.