Product sheet

Клетки NCI-H3122 | 300484

Обща информация

Description	Клетъчната линия NCI-H3122 е получена от недребноклетъчен рак на белия дроб (НДКБД) и се характеризира с наличието на фюжън гена EML4-ALK, който е резултат от хромозомна транслокация между ехинодермалния микротубул-асоцииран протеин, подобен на 4 (EML4), и анапластичната лимфом киназа (ALK). Този синтез задвижва онкогенните сигнали и прави клетките NCI-H3122 силно зависими от сигналите на ALK за оцеляване, известни като "ALK-зависими" NCI-H3122 се е превърнал в ключов модел за изследване на целеви терапии, особено за инхибитори на ALK като кризотиниб. Проучванията показват, че клетките NCI-H3122 са чувствителни към кризотиниб, който инхибира фосфорилирането на ALK и неговите низходящи цели като пътищата AKT и ERK. Често обаче се развива резистентност към кризотиниб, обикновено поради алтернативни сигнални пътища, като например активиране на рецептора за епидермален растежен фактор (EGFR). Този механизъм на резистентност е потвърден при резистентни варианти на NCI-H3122, при които е наблюдавано повишено фосфорилиране на EGFR, и е доказано, че двойното инхибиране на ALK и EGFR с помощта на кризотиниб и инхибитори на EGFR, като например afatinib или erlotinib, преодолява резистентността. NCI-H3122 често се използва за проучване на комбинирани терапии, насочени към предотвратяване или обръщане на лекарствената резистентност. Например, насочването към двата пътя ALK и EGFR е успешна стратегия в предклинични модели и това двойно инхибиране е предложено като потенциален терапевтичен подход за ALK-позитивни, резистентни към кризотиниб пациенти с NSCLC.
Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Аденокарцином
Synonyms	NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Характеристики

Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	NCI-H3122 (каталожен номер 300484 на Cytion)

Клетки NCI-H3122 | 300484

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5160

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO3 (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H3122 | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H3122 | 300484

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '03:01:01 **B***: '35:01:01 **C***: '04:01:01 **DRB1***: '13:01:01 **DQA1***: '01:03:01 **DQB1***: '06:03:01 **DPB1***: '14:01:01 **E**: '01:03:02