

NCI-H3122 rakud | 300484

Üldine teave

Description

NCI-H3122 rakuliin on saadud mitteväikerakk-kopsuvähist (NSCLC) ja seda iseloomustab EML4-ALK fusioongeeni olemasolu, mis tuleneb kromosomaalsest translokatsioonist ekinodermi mikrotubuliga assotsieerunud valgu sarnase 4 (EML4) ja anaplastilise lümfoomi kinaasi (ALK) vahel. See fusioon juhib onkogeenset signalisatsiooni ja muudab NCI-H3122 rakud ellujäämiseks väga sõltuvaks ALK-signalisatsioonist, mida nimetatakse "ALK-sõltuvuseks" NCI-H3122 on muutunud oluliseks mudeliks sihtotstarbeliste ravimeetodite, eriti ALK inhibiitorite, nagu kritsotiniib, uurimiseks.

Uuringud on näidanud, et NCI-H3122 rakud on tundlikud kritsotiniibi suhtes, mis pärsib ALK fosforüülimist ja selle allavoolu sihtmärke, nagu AKT- ja ERK-radu. Siiski tekib sageli resistentsus kritsotiniibi suhtes, mis on tavaliselt tingitud alternatiivsetest signaaliradadest, näiteks epidermise kasvufaktori retseptori (EGFR) aktiveerimisest. See resistentsusmehhanism on leidnud kinnitust NCI-H3122 resistentsete variantide puhul, kus täheldati EGFR-i suurenenud fosforüleerimist ning näidati, et ALK ja EGFR-i kahekordne inhibeerimine kritsotiniibi ja EGFR-i inhibiitorite, nagu afatiniib või erlotiniib, abil võimaldab resistentsust ületada.

NCI-H3122 kasutatakse sageli kombineeritud ravi uurimiseks, mille eesmärk on ravimi resistentsuse vältimine või ümberpööramine. Näiteks on nii ALK- kui ka EGFR-radadele suunatud ravi olnud edukas strateegia prekliinilistes mudelites ning seda kahekordset inhibeerimist on pakutud potentsiaalse ravimeetodina ALK-positiivsete, kritsotiniibi suhtes resistentsete NSCLC patsientide puhul.

Organism

Inimene

Tissue

Kopsud

Disease

Adenokartsinoom

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Omadused

Gender

Mees

Ethnicity

Kaukaasia

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

NCI-H3122 (Cytioni katalooginumber 300484)

Biosafety level

1

NCI-H3122 rakud | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NCI-H3122 rakud | 300484

Thawing and
Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation
Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing
Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping
Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H3122 rakud | 300484

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmaakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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