

NCI-H3122-solut | 300484

Yleisiä tietoja

Description

NCI-H3122-solulinja on peräisin ei-pienisoluisesta keuhkosityövästä (NSCLC), ja sille on ominaista EML4-ALK-fuusiogeenin esiintyminen, joka on seurausta kromosomitranslokaatiosta ekinodermisen mikrotubulus-assosioituneen proteiinin kaltaisen 4:n (EML4) ja anaplastisen lymfoomakinaasin (ALK) välillä. Tämä fuusio ohjaa onkogeenistä signaalia ja tekee NCI-H3122-soluista erittäin riippuvaisia ALK-signaaloinnista selviytyäkseen, eli ne ovat "ALK-riippuvaisia" NCI-H3122:sta on tullut keskeinen malli kohdennettujen hoitojen, erityisesti ALK:n estäjien, kuten kritsotinibin, tutkimisessa.

Tutkimukset ovat osoittaneet, että NCI-H3122-solut ovat herkkiä kritsotinibille, joka estää ALK:n fosforylaatiota ja sen myöhempiä kohteita, kuten AKT- ja ERK-reittejä. Resistenssi kritsotinibille kehittyy kuitenkin usein, ja se johtuu tyypillisesti vaihtoehtoisista signaalireiteistä, kuten epidermisen kasvutekijän reseptorin (EGFR) aktivoitumisesta. Tämä resistenssimekanismi on vahvistettu NCI-H3122-resistenteissä muunnoksissa, joissa havaittiin lisääntynyttä EGFR:n fosforylaatiota, ja ALK:n ja EGFR:n kaksoisen eston, jossa käytetään kritsotinibia ja EGFR:n estäjiä, kuten afatinibia tai erlotinibia, osoitettiin voittavan resistenssin.

NCI-H3122:ta käytetään usein tutkimaan yhdistelmähoitoja, joilla pyritään ehkäisemään tai kumoamaan lääkeresistenssi. Esimerkiksi sekä ALK- että EGFR-reitteihin kohdistaminen on ollut menestyksenkäs strategia prekliinisissä malleissa, ja tätä kaksoisinhibitiota on ehdotettu potentiaalisesti terapeuttiseksi lähestymistavaksi ALK-positiivisille, kritsotinibille resistentille NSCLC-potilaille.

Organism

Ihminen

Tissue

Keuhkot

Disease

Adenokarsinooma

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122, NCIH3122

Ominaisuudet

Gender

Mies

Ethnicity

Kaukasialainen

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

NCI-H3122 (Cytionin luettelonumero 300484)

Biosafety level

1

NCI-H3122-solut | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NCI-H3122-solut | 300484

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCI-H3122-solut | 300484

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA**Sterility**

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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