

Cellules NCI-H3122 | 300484

Informations générales

Description

La lignée cellulaire NCI-H3122 est dérivée d'un cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC) et se caractérise par la présence du gène de fusion EML4-ALK, qui résulte d'une translocation chromosomique entre la protéine 4 de type échinoderme associée aux microtubules (EML4) et la kinase du lymphome anaplasique (ALK). Cette fusion entraîne une signalisation oncogène et rend les cellules NCI-H3122 très dépendantes de la signalisation ALK pour leur survie, c'est-à-dire qu'elles sont "dépendantes d'ALK". NCI-H3122 est devenu un modèle clé pour l'étude des thérapies ciblées, en particulier pour les inhibiteurs d'ALK comme le crizotinib.

Des études ont montré que les cellules NCI-H3122 sont sensibles au crizotinib, qui inhibe la phosphorylation de l'ALK et ses cibles en aval telles que les voies AKT et ERK. Cependant, une résistance au crizotinib se développe souvent, généralement en raison de voies de signalisation alternatives telles que l'activation du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). Ce mécanisme de résistance a été confirmé dans les variantes résistantes de NCI-H3122, où une phosphorylation accrue de l'EGFR a été observée, et la double inhibition de l'ALK et de l'EGFR à l'aide du crizotinib et d'inhibiteurs de l'EGFR tels que l'afatinib ou l'erlotinib s'est avérée capable de surmonter la résistance.

Le NCI-H3122 est fréquemment utilisé pour explorer les thérapies combinées visant à prévenir ou à inverser la résistance aux médicaments. Par exemple, le ciblage des voies ALK et EGFR s'est avéré une stratégie efficace dans les modèles précliniques, et cette double inhibition a été suggérée comme une approche thérapeutique potentielle pour les patients atteints de CPNPC ALK-positifs et résistants au crizotinib.

Organism

Humain

Tissue

Poumon

Disease

Adénocarcinome

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Caractéristiques

Gender

Homme

Ethnicity

Caucasien

Growth properties

Adhérent

Données réglementaires

Citation

NCI-H3122 (numéro de catalogue Cytion 300484)

Cellules NCI-H3122 | 300484

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5160

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820700a)
----------------	--

Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
-------------	-------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
--------------	--

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.
---------------	--

Cellules NCI-H3122 | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules NCI-H3122 | 300484**Shipping
Conditions**

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Storage
Conditions**

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA**Sterility**

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

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11,12
D13S317: 10,12
D16S539: 11,12
D5S818: 11,12
D7S820: 8,12
TH01: 7,9,3
TPOX: 10,10
vWA: 16,16
D3S1358: 16,16
D21S11: 28,29
D18S51: 13,16
Penta E: 12,12
Penta D: 10,13
D8S1179: 13,15
FGA: 18,21

Allèles HLA

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