

NCI-H3122 sejtek | 300484

Általános információk

Description

Az NCI-H3122 sejtvonal nem kissejtes tüdőrákból (NSCLC) származik, és az EML4-ALK fúziós gén jelenléte jellemzi, amely az echinoderm mikrotubulus-asszociált fehérje-szerű 4 (EML4) és az anaplasztikus limfóma kináz (ALK) közötti kromoszómatranszlokáció eredménye. Ez a fúzió az onkogén jelátvitelt irányítja, és az NCI-H3122 sejteket a túlélés érdekében nagymértékben függővé teszi az ALK jelátviteltől, úgynevezett "ALK-függővé" teszi. Az NCI-H3122 a célzott terápiák, különösen az ALK-gátlók, például a krizotinib tanulmányozásának kulcsfontosságú modelljévé vált.

Vizsgálatok kimutatták, hogy az NCI-H3122 sejtek érzékenyek a krizotinibre, amely gátolja az ALK foszforilációt és annak downstream célpontjait, például az AKT és ERK útvonalakat. A krizotinibbal szembeni rezisztencia azonban gyakran kialakul, jellemzően alternatív jelátviteli útvonalak, például az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) aktiválása miatt. Ezt a rezisztencia-mechanizmust az NCI-H3122 rezisztens variánsok esetében megerősítették, ahol az EGFR fokozott foszforilációját figyelték meg, és az ALK és az EGFR kettős gátlása a krizotinib és az EGFR-gátlók, például az afatinib vagy az erlotinib alkalmazásával leküzdhetőnek bizonyult.

Az NCI-H3122-t gyakran használják a gyógyszerrezisztencia megelőzését vagy visszafordítását célzó kombinált terápiák feltárására. Például az ALK és az EGFR útvonalak megcélzása sikeres stratégiának bizonyult preklinikai modellekben, és ezt a kettős gátlást az ALK-pozitív, krizotinib-rezisztens NSCLC-s betegek potenciális terápiás megközelítésének javasolták.

Organism

Emberi

Tissue

Tüdő

Disease

Adenokarcinóma

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Jellemzők

Gender

Férfi

Ethnicity

Kaukázusi

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

NCI-H3122 (Cytion katalógusszám: 300484)

Biosafety level

1

NCI-H3122 sejtek | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion 820700a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

NCI-H3122 sejtek | 300484

Thawing and
Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation
Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing
Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCI-H3122 sejtek | 300484

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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