

Sel NCI-H3122 | 300484

Informasi umum

Description

Garis sel NCI-H3122 berasal dari kanker paru non-sel kecil (NSCLC) dan ditandai dengan adanya gen fusi EML4-ALK, yang dihasilkan dari translokasi kromosom antara echinoderm microtubule-associated protein-like 4 (EML4) dan limfoma kinase anaplastik (ALK). Fusi ini mendorong pensinyalan onkogenik dan membuat sel NCI-H3122 sangat bergantung pada pensinyalan ALK untuk bertahan hidup, yang dikenal sebagai "kecanduan ALK." NCI-H3122 telah menjadi model utama untuk mempelajari terapi yang ditargetkan, terutama untuk penghambat ALK seperti crizotinib.

Penelitian telah menunjukkan bahwa sel NCI-H3122 sensitif terhadap crizotinib, yang menghambat fosforilasi ALK dan target hilirnya seperti jalur AKT dan ERK. Namun, resistensi terhadap crizotinib sering kali berkembang, biasanya karena jalur pensinyalan alternatif seperti aktivasi reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR). Mekanisme resistensi ini telah dikonfirmasi pada varian resisten NCI-H3122, di mana peningkatan fosforilasi EGFR diamati, dan penghambatan ganda ALK dan EGFR menggunakan crizotinib dan penghambat EGFR seperti afatinib atau erlotinib terbukti dapat mengatasi resistensi.

NCI-H3122 sering digunakan untuk mengeksplorasi terapi kombinasi yang bertujuan untuk mencegah atau membalikkan resistensi obat. Sebagai contoh, menargetkan jalur ALK dan EGFR telah menjadi strategi yang berhasil dalam model praklinis, dan penghambatan ganda ini telah disarankan sebagai pendekatan terapeutik yang potensial untuk pasien NSCLC yang resisten terhadap ALK-positif dan resisten terhadap crizotinib.

Organism

Manusia

Tissue

Paru-paru

Disease

Adenokarsinoma

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Karakteristik

Gender

Laki-laki

Ethnicity

Kaukasia

Growth properties

Patuh

Data Peraturan

Citation

NCI-H3122 (Nomor katalog Cytion 300484)

Biosafety level

1

Sel NCI-H3122 | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Data Biomolekuler

Penanganan

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM Glutamin stabil, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Nomor artikel Cytion 820700a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Buang media lama dari sel yang melekat dan cuci dengan PBS yang tidak mengandung kalsium dan magnesium. Untuk labu T25, gunakan 3-5 ml PBS, dan untuk labu T75, gunakan 5-10 ml. Kemudian, tutupi sel sepenuhnya dengan Accutase, menggunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. Biarkan sel diinkubasi pada suhu kamar selama 8-10 menit untuk melepaskannya. Setelah inkubasi, campurkan sel secara perlahan dengan 10 ml medium untuk meresuspensi sel, kemudian sentrifugasi pada 300xg selama 3 menit. Buang supernatan, resuspensi sel dalam medium segar, dan pindahkan ke dalam labu baru yang sudah berisi medium segar.**Freeze medium** Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel NCI-H3122 | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel NCI-H3122 | 300484

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78 ° C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel 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