

NCI-H3122 ląstelės | 300484

Bendra informacija

Description

NCI-H3122 ląstelių linija yra kilusi iš nesmulkiająstelinio plaučių vėžio (NSLPV) ir pasižymi EML4-ALK sintezės genu, kuris atsiranda dėl chromosominės translokacijos tarp echinodermo į mikrotubulus panašaus baltymo 4 (EML4) ir anaplastinės limfomos kinazės (ALK). Ši sintezė lemia onkogeninį signalą, todėl NCI-H3122 ląstelės yra labai priklausomos nuo ALK signalo, kad išgyventų, vadinamos "priklausomomis nuo ALK" NCI-H3122 tapo pagrindiniu modeliu tikslinių terapijų, ypač ALK inhibitorių, tokių kaip crizotinibas, tyrimams.

Tyrimai parodė, kad NCI-H3122 ląstelės yra jautrios crizotinibui, kuris slopina ALK fosforilinimą ir jo tolesnius taikinius, pavyzdžiui, AKT ir ERK kelius. Tačiau dažnai išsivysto atsparumas crizotinibui, paprastai dėl alternatyvių signalinių kelių, pavyzdžiui, epidermio augimo faktoriaus receptoriaus (EGFR) aktyvacijos. Šis atsparumo mechanizmas buvo patvirtintas NCI-H3122 atsparių variantų atveju, kai buvo pastebėtas padidėjęs EGFR fosforilinimas, o dvigubas ALK ir EGFR slopinimas naudojant crizotinibą ir EGFR inhibitorius, tokius kaip afatinibas ar erlotinibas, padėjo įveikti atsparumą.

NCI-H3122 dažnai naudojamas tiriant kombinuotąsias terapijas, kuriomis siekiama užkirsti kelią atsparumui vaistams arba jį panaikinti. Pavyzdžiui, ikiklinikiniuose modeliuose buvo sėkmingai taikoma strategija, nukreipta ir į ALK, ir į EGFR kelius, ir šis dvigubas slopinimas buvo pasiūlytas kaip galimas terapinis metodas ALK teigiamam, crizotinibui atspariam NSLPV sergantiems pacientams.

Organism

Žmogus

Tissue

Plaučiai

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Charakteristikos

Gender

Vyras

Ethnicity

Kaukaziečių

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation

NCI-H3122 (Cytion katalogo numeris 300484)

Biosafety level

1

NCI-H3122 ląstelės | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelti jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NCI-H3122 ląstelės | 300484

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NCI-H3122 ląstelės | 300484

**Shipping
Conditions**

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkeltite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

**Storage
Conditions**

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA**Sterility**

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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