

## NCI-H3122 šūnas | 300484

## Vispārīga informācija

## Description

NCI-H3122 šūnu līnija ir iegūta no plaušu vēža, kas nav mazšūnu plaušu vēzis (NSCLC), un tai ir raksturīgs EML4-ALK fusion gēns, kas rodas hromosomālās translokācijas rezultātā starp ehinodermu mikrotubuliem līdzīgo olbaltumvielu 4 (EML4) un anaplastisko limfomu kināzi (ALK). Šī saplūšana veicina onkogēno signalizāciju un padara NCI-H3122 šūnas ļoti atkarīgas no ALK signalizācijas izdzīvošanas nodrošināšanai, ko dēvē par "ALK atkarīgām". NCI-H3122 ir kļuvusi par galveno modeli mērķterapijas, īpaši ALK inhibitoru, piemēram, krizotinibu, izpētei.

Pētījumi liecina, ka NCI-H3122 šūnas ir jutīgas pret krizotinibu, kas inhibē ALK fosforilēšanu un tās pakārtotos mērķus, piemēram, AKT un ERK ceļus. Tomēr pret krizotinibu bieži attīstās rezistence, ko parasti izraisa alternatīvi signalizācijas ceļi, piemēram, epidermālā augšanas faktora receptora (EGFR) aktivācija. Šīs rezistences mehānisms ir apstiprināts NCI-H3122 rezistentajos variantos, kur tika novērota palielināta EGFR fosforilēšana, un tika pierādīts, ka rezistenci pārvar duāla ALK un EGFR inhibīcija, izmantojot krizotinibu un EGFR inhibitorus, piemēram, afatinibu vai erlotinibu.

NCI-H3122 bieži izmanto, lai izpētītu kombinētās terapijas, kuru mērķis ir novērst vai mainīt rezistenci pret zālēm. Piemēram, preklīniskajos modeļos ir bijusi veiksmīga stratēģija, kas vērsta gan pret ALK, gan EGFR ceļiem, un šī duālā inhibīcija ir ierosināta kā potenciāla terapeitiska pieeja ALK pozitīviem, pret krizotinibu rezistentiem NSCLC pacientiem.

## Organism

Cilvēks

## Tissue

Plaušas

## Disease

Adenokarcinoma

## Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

## Raksturojums

## Gender

Vīrieši

## Ethnicity

Kaukāzietis

## Growth properties

Adherent

## Normatīvie dati

## Citation

NCI-H3122 (Cytion kataloga numurs 300484)

## Biosafety level

1

## NCI-H3122 šūnas | 300484

NCBI\_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL\_5160

## Biomolekulārie dati

## Darbs ar

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## NCI-H3122 šūnas | 300484

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating**

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## NCI-H3122 šūnas | 300484

**Shipping  
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage  
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

**Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA****Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

**HLA alēles**

**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