

NCI-H3122-celler | 300484

Generell informasjon

Description

NCI-H3122-cellelinjen stammer fra ikke-småcellet lungekreft (NSCLC) og kjennetegnes av tilstedeværelsen av fusjonsgenet EML4-ALK, som er resultatet av en kromosomal translokasjon mellom echinoderm mikrotubuli-assosiert protein-lignende 4 (EML4) og anaplastisk lymfomkinase (ALK). Denne fusjonen driver onkogen signalering og gjør NCI-H3122-celler svært avhengige av ALK-signalering for å overleve, kjent som "ALK-avhengige". NCI-H3122 har blitt en viktig modell for studier av målrettede behandlingsformer, særlig for ALK-hemmere som crizotinib.

Studier har vist at NCI-H3122-celler er følsomme for crizotinib, som hemmer ALK-fosforylering og dens nedstrøms mål som AKT- og ERK-veiene. Det utvikles imidlertid ofte resistens mot crizotinib, vanligvis på grunn av alternative signalveier som aktivering av den epidermale vekstfaktorreseptoren (EGFR). Denne resistensmekanismen er bekreftet i NCI-H3122-resistente varianter, der økt EGFR-fosforylering ble observert, og dobbel hemming av ALK og EGFR ved hjelp av crizotinib og EGFR-hemmere som afatinib eller erlotinib har vist seg å overvinne resistensen.

NCI-H3122 brukes ofte til å utforske kombinasjonsbehandlinger som tar sikte på å forebygge eller reversere legemiddelresistens. For eksempel har det vist seg å være en vellykket strategi i prekliniske modeller å angripe både ALK og EGFR, og denne doble hemmingen har blitt foreslått som en potensiell terapeutisk tilnærming for ALK-positive, crizotinib-resistente NSCLC-pasienter.

Organism

Menneskelig

Tissue

Lunge

Disease

Adenokarsinom

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Kjennetegn

Gender

Mann

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

NCI-H3122 (Cytion katalognummer 300484)

Biosafety level

1

NCI-H3122-celler | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

NCI-H3122-celler | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H3122-celler | 300484**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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

HLA-alleler

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