

Células NCI-H3122 | 300484

Informações gerais

Description

A linha celular NCI-H3122 é derivada de cancro do pulmão de células não pequenas (NSCLC) e é caracterizada pela presença do gene de fusão EML4-ALK, que resulta de uma translocação cromossômica entre a proteína equinoderme microtubule-associated protein-like 4 (EML4) e a quinase do linfoma anaplásico (ALK). Esta fusão conduz a uma sinalização oncogénica e torna as células NCI-H3122 altamente dependentes da sinalização ALK para sobreviverem, sendo conhecidas como "ALK-addicted". A célula NCI-H3122 tornou-se um modelo chave para o estudo de terapias direcionadas, particularmente para inibidores da ALK como o crizotinib.

Estudos demonstraram que as células NCI-H3122 são sensíveis ao crizotinib, que inibe a fosforilação da ALK e os seus alvos a jusante, como as vias AKT e ERK. No entanto, a resistência ao crizotinib desenvolve-se frequentemente, normalmente devido a vias de sinalização alternativas, como a ativação do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). Este mecanismo de resistência foi confirmado nas variantes resistentes do NCI-H3122, em que se observou um aumento da fosforilação do EGFR, e a inibição dupla da ALK e do EGFR utilizando crizotinib e inibidores do EGFR, como o afatinib ou o erlotinib, demonstrou ultrapassar a resistência.

O NCI-H3122 é frequentemente utilizado para explorar terapias combinadas com o objetivo de prevenir ou inverter a resistência aos medicamentos. Por exemplo, o tratamento das vias ALK e EGFR tem sido uma estratégia bem sucedida em modelos pré-clínicos, e esta dupla inibição tem sido sugerida como uma potencial abordagem terapêutica para doentes com CPNPC ALK-positivo e resistente ao crizotinib.

Organism

Humano

Tissue

Pulmão

Disease

Adenocarcinoma

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Caraterísticas

Gender

Masculino

Ethnicity

Caucasiano

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Citation

NCI-H3122 (número de catálogo Cytion 300484)

Biosafety level

1

Células NCI-H3122 | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Dados biomoleculares

Manuseamento

Culture Medium RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células NCI-H3122 | 300484**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células NCI-H3122 | 300484**Shipping
Conditions**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA**Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Alelos 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