

Celule NCI-H3122 | 300484

Informații generale

Description

Linia celulară NCI-H3122 este derivată din cancerul pulmonar non-celular mic (NSCLC) și se caracterizează prin prezența genei de fuziune EML4-ALK, care rezultă dintr-o translocatie cromozomială între EML4 (echinoderm microtubule-associated protein-like 4) și ALK (anaplastic lymphoma kinase). Această fuziune determină semnalizarea oncogenă și face ca celulele NCI-H3122 să fie foarte dependente de semnalizarea ALK pentru supraviețuire, fiind cunoscute sub denumirea de "dependente de ALK" NCI-H3122 a devenit un model-cheie pentru studiul terapiilor țintite, în special pentru inhibitorii ALK precum crizotinib.

Studiile au arătat că celulele NCI-H3122 sunt sensibile la crizotinib, care inhibă fosforilarea ALK și țintele sale din aval, cum ar fi căile AKT și ERK. Cu toate acestea, rezistența la crizotinib se dezvoltă adesea, de obicei datorită căilor de semnalizare alternative, cum ar fi activarea receptorului factorului de creștere epidermic (EGFR). Acest mecanism de rezistență a fost confirmat în variantele rezistente la NCI-H3122, unde a fost observată o fosforilare crescută a EGFR, iar inhibarea dublă a ALK și EGFR utilizând crizotinib și inhibitori EGFR, cum ar fi afatinib sau erlotinib, s-a dovedit a depăși rezistența.

NCI-H3122 este utilizat frecvent pentru a explora terapii combinate care vizează prevenirea sau inversarea rezistenței la medicamente. De exemplu, ținerea căilor ALK și EGFR a fost o strategie de succes în modelele preclinice, iar această inhibiție dublă a fost sugerată ca o potențială abordare terapeutică pentru pacienții cu NSCLC pozitiv la ALK și rezistent la crizotinib.

Organism

Om

Tissue

Plămân

Disease

Adenocarcinom

Synonyms

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Caracteristici

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucasian

Growth properties

Aderent

Date de reglementare

Citation

NCI-H3122 (număr de catalog Cytion 300484)

Biosafety level

1

Celule NCI-H3122 | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO₃ (număr articol Cytion 820700a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule NCI-H3122 | 300484

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu collagen**.

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

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

Liniiile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Storage
Conditions**

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA**Sterility**

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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