

**Celice NCI-H3122 | 300484****Splošne informacije****Description**

Celična linija NCI-H3122 izhaja iz nedrobnoceličnega pljučnega raka (NSCLC), zanjo pa je značilna prisotnost fuzijskega gena EML4-ALK, ki je posledica kromosomske translokacije med ehinodermskim mikrotubulom podobnim proteinom 4 (EML4) in anaplastično limfokinazo (ALK). Ta fuzija poganja onkogeno signalizacijo in povzroča, da so celice NCI-H3122 za preživetje zelo odvisne od signalizacije ALK, znane kot "odvisne od ALK". NCI-H3122 so postale ključni model za preučevanje ciljanih terapij, zlasti zaviralcev ALK, kot je krizotinib.

Študije so pokazale, da so celice NCI-H3122 občutljive na krizotinib, ki zavira fosforilacijo ALK in njegove nadaljnje cilje, kot sta poti AKT in ERK. Vendar se pogosto razvije odpornost na krizotinib, običajno zaradi alternativnih signalnih poti, kot je aktivacija receptorja za epidermalni rastni dejavnik (EGFR). Ta mehanizem odpornosti je bil potrjen pri odpornih različicah NCI-H3122, kjer je bila opažena povečana fosforilacija EGFR, pri čemer se je izkazalo, da dvojno zaviranje ALK in EGFR z uporabo krizotiniba in zaviralcev EGFR, kot sta afatinib ali erlotinib, premaga odpornost.

NCI-H3122 se pogosto uporablja za raziskovanje kombiniranih terapij, katerih cilj je preprečiti ali odpraviti odpornost na zdravlila. Uspešna strategija v predkliničnih modelih je bilo na primer ciljanje na poti ALK in EGFR, ta dvojna inhibicija pa je bila predlagana kot potencialni terapevtski pristop za bolnike z ALK-pozitivnim NSCLC, ki so odporni na krizotinib.

**Organism**

Človek

**Tissue**

Pljuča

**Disease**

Adenokarcinom

**Synonyms**

NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

**Značilnosti****Gender**

Moški

**Ethnicity**

Kavkaški

**Growth properties**

Pripadajoče

**Regulativni podatki****Citation**

NCI-H3122 (katalogska številka Cytion 300484)

**Biosafety level**

1

**Celice NCI-H3122 | 300484****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_5160**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (številka izdelka Cytion 820700a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

### Celice NCI-H3122 | 300484

#### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod  $-150^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

#### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

#### Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

#### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

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

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

**Storage  
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

**Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA****Sterility**

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

**Aleli 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