

NCI-H3122-Zellen | 300484

Allgemeine Informationen

Description

Die Zelllinie NCI-H3122 stammt von nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (NSCLC) und zeichnet sich durch das Vorhandensein des EML4-ALK-Fusionsgens aus, das aus einer chromosomalen Translokation zwischen Echinoderm microtubule-associated protein-like 4 (EML4) und anaplastischer Lymphomkinase (ALK) resultiert. Diese Fusion treibt die onkogene Signalübertragung an und macht NCI-H3122-Zellen in hohem Maße von der ALK-Signalübertragung abhängig, was als "ALK-süchtig" bezeichnet wird. NCI-H3122 ist zu einem Schlüsselmodell für die Untersuchung zielgerichteter Therapien geworden, insbesondere für ALK-Inhibitoren wie Crizotinib.

Studien haben gezeigt, dass NCI-H3122-Zellen empfindlich auf Crizotinib reagieren. Crizotinib hemmt die ALK-Phosphorylierung und ihre nachgeschalteten Ziele wie den AKT- und ERK-Signalweg. Allerdings entwickelt sich häufig eine Resistenz gegen Crizotinib, die in der Regel auf alternative Signalwege wie die Aktivierung des epidermalen Wachstumsfaktorrezeptors (EGFR) zurückzuführen ist. Dieser Resistenzmechanismus wurde bei resistenten Varianten von NCI-H3122 bestätigt, bei denen eine erhöhte EGFR-Phosphorylierung beobachtet wurde, und es hat sich gezeigt, dass eine duale Hemmung von ALK und EGFR durch Crizotinib und EGFR-Inhibitoren wie Afatinib oder Erlotinib die Resistenz überwinden kann.

NCI-H3122 wird häufig zur Erforschung von Kombinationstherapien eingesetzt, die darauf abzielen, Arzneimittelresistenzen zu verhindern oder umzukehren. So hat sich beispielsweise die gezielte Beeinflussung der ALK- und EGFR-Signalwege in präklinischen Modellen als erfolgreiche Strategie erwiesen, und diese duale Hemmung wurde als potenzieller Therapieansatz für ALK-positive, Crizotinib-resistente NSCLC-Patienten vorgeschlagen.

Organism Menschen

Tissue Lunge

Disease Adenokarzinom

Synonyms NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Merkmale

Gender Männlich

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

NCI-H3122-Zellen | 300484

Citation NCI-H3122 (Cytion Katalognummer 300484)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

NCI-H3122-Zellen | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NCI-H3122-Zellen | 300484

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

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: 10,1
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-Allele

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