

Κύτταρα NCI-H3122 | 300484

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά NCI-H3122 προέρχεται από μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC) και χαρακτηρίζεται από την παρουσία του γονιδίου σύντηξης EML4-ALK, το οποίο προκύπτει από μια χρωμοσωμική μετάθεση μεταξύ της πρωτεΐνης EML4 (echinoderm microtubule-associated protein-like 4) και της κινάσης του αναπλαστικού λεμφώματος (ALK). Αυτή η σύντηξη οδηγεί την ογκογόνο σηματοδότηση και καθιστά τα κύτταρα NCI-H3122 εξαιρετικά εξαρτημένα από τη σηματοδότηση ALK για την επιβίωσή τους, γνωστά ως "εξαρτημένα από την ALK". Το NCI-H3122 έχει γίνει βασικό μοντέλο για τη μελέτη στοχευμένων θεραπειών, ιδίως για αναστολείς της ALK όπως το crizotinib.

Μελέτες έχουν δείξει ότι τα κύτταρα NCI-H3122 είναι ευαίσθητα στο crizotinib, το οποίο αναστέλλει τη φωσφορυλίωση της ALK και τους μεταγενέστερους στόχους της, όπως τα μονοπάτια AKT και ERK. Ωστόσο, συχνά αναπτύσσεται αντίσταση στο crizotinib, συνήθως λόγω εναλλακτικών μονοπατιών σηματοδότησης, όπως η ενεργοποίηση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR). Αυτός ο μηχανισμός αντίστασης επιβεβαιώθηκε σε ανθεκτικές παραλλαγές του NCI-H3122, όπου παρατηρήθηκε αυξημένη φωσφορυλίωση του EGFR, και η διπλή αναστολή της ALK και του EGFR με τη χρήση crizotinib και αναστολέων του EGFR, όπως η afatinib ή η erlotinib, αποδείχθηκε ότι ξεπερνά την αντίσταση.

Το NCI-H3122 χρησιμοποιείται συχνά για τη διερεύνηση συνδυαστικών θεραπειών με στόχο την πρόληψη ή την αντιστροφή της αντίστασης στα φάρμακα. Για παράδειγμα, η στόχευση τόσο των μονοπατιών ALK όσο και του EGFR αποτέλεσε επιτυχημένη στρατηγική σε προκλινικά μοντέλα και αυτή η διπλή αναστολή έχει προταθεί ως πιθανή θεραπευτική προσέγγιση για ασθενείς με ALK-θετικό, ανθεκτικό στο crizotinib NSCLC.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

Disease Αδενοκαρκίνωμα

Synonyms NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Χαρακτηριστικά

Gender Άντρας

Ethnicity Καυκάσιος

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation NCI-H3122 (αριθμός καταλόγου Cytion 300484)

Κύτταρα NCI-H3122 | 300484

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5160**Βιομοριακά δεδομένα****Χειρισμός****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα NCI-H3122 | 300484

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

Προφίλ STR

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 αλληλόμορφα

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