

NCI-H3122 rakud | 300484

Üldine teave

Description

NCI-H3122 rakuliin on saadud mitteväikerakk-kopsuvähist (NSCLC) ja seda iseloomustab EML4-ALK fusioongeeni olemasolu, mis tuleneb kromosomaalsest translokatsioonist ekinodermi mikrotubuliga assotsieerunud valgu sarnase 4 (EML4) ja anaplastilise lümfoomi kinaasi (ALK) vahel. See fusioon juhib onkogeenset signalisatsiooni ja muudab NCI-H3122 rakud ellujäämiseks väga sõltuvaks ALK-signalisatsioonist, mida nimetatakse "ALK-sõltuvuseks" NCI-H3122 on muutunud oluliseks mudeliks sihtotstarbeliste ravimeetodite, eriti ALK inhibiitorite, nagu kritsotiniib, uurimiseks.

Uuringud on näidanud, et NCI-H3122 rakud on tundlikud kritsotiniibi suhtes, mis pärsib ALK fosforüülimist ja selle allavoolu sihtmärke, nagu AKT- ja ERK-radu. Siiski tekib sageli resistentsus kritsotiniibi suhtes, mis on tavaliselt tingitud alternatiivsetest signaaliradadest, näiteks epidermise kasvufaktori retseptori (EGFR) aktiveerimisest. See resistentsusmehhanism on leidnud kinnitust NCI-H3122 resistentsete variantide puhul, kus täheldati EGFR-i suurenenud fosforüleerimist ning näidati, et ALK ja EGFR-i kahekordne inhibeerimine kritsotiniibi ja EGFR-i inhibiitorite, nagu afatiniib või erlotiniib, abil võimaldab resistentsust ületada.

NCI-H3122 kasutatakse sageli kombineeritud ravi uurimiseks, mille eesmärk on ravimi resistentsuse vältimine või ümberpööramine. Näiteks on nii ALK- kui ka EGFR-radadele suunatud ravi olnud edukas strateegia prekliinilistes mudelites ning seda kahekordset inhibeerimist on pakutud potentsiaalse ravimeetodina ALK-positiivsete, kritsotiniibi suhtes resistentsete NSCLC patsientide puhul.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Adenokartsinoom

Synonyms NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Omadused

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation NCI-H3122 (Cytioni katalooginumber 300484)

Biosafety level 1

NCI-H3122 rakud | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NCI-H3122 rakud | 300484

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H3122 rakud | 300484

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

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 alleles

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