

Cellule NCI-H3122 | 300484**Informazioni generali****Description**

La linea cellulare NCI-H3122 deriva dal carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) ed è caratterizzata dalla presenza del gene di fusione EML4-ALK, che risulta da una traslocazione cromosomica tra la proteina associata al microtubulo echinoderma simile a 4 (EML4) e la chinasi del linfoma anaplastico (ALK). Questa fusione guida la segnalazione oncogenica e rende le cellule NCI-H3122 altamente dipendenti dalla segnalazione di ALK per la sopravvivenza, note come "ALK-addicted". NCI-H3122 è diventato un modello chiave per lo studio di terapie mirate, in particolare per gli inibitori di ALK come crizotinib.

Gli studi hanno dimostrato che le cellule NCI-H3122 sono sensibili a crizotinib, che inibisce la fosforilazione di ALK e i suoi bersagli a valle, come le vie AKT ed ERK. Tuttavia, spesso si sviluppa una resistenza a crizotinib, tipicamente dovuta a vie di segnalazione alternative come l'attivazione del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR). Questo meccanismo di resistenza è stato confermato nelle varianti resistenti al NCI-H3122, dove è stata osservata un'aumentata fosforilazione dell'EGFR, e la doppia inibizione di ALK ed EGFR con crizotinib e inibitori dell'EGFR come afatinib o erlotinib ha dimostrato di superare la resistenza.

L'NCI-H3122 è spesso utilizzato per esplorare terapie di combinazione volte a prevenire o invertire la resistenza ai farmaci. Ad esempio, il bersaglio di entrambe le vie ALK ed EGFR è stata una strategia di successo nei modelli preclinici e questa doppia inibizione è stata suggerita come potenziale approccio terapeutico per i pazienti NSCLC ALK-positivi e resistenti a crizotinib.

Organism Umano**Tissue** Polmone**Disease** Adenocarcinoma**Synonyms** NCI-H3122, H-3122, NCIH3122**Caratteristiche****Gender** Uomo**Ethnicity** Caucasio**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** NCI-H3122 (catalogo Cytion numero 300484)**Biosafety level** 1

Cellule NCI-H3122 | 300484**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5160**Dati biomolecolari****Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule NCI-H3122 | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NCI-H3122 | 300484

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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