

NCI-H3122 Cellen | 300484

Algemene informatie

Description

De NCI-H3122 cellijn is afgeleid van niet-kleincellige longkanker (NSCLC) en wordt gekenmerkt door de aanwezigheid van het EML4-ALK fusiegen, dat het resultaat is van een chromosomale translocatie tussen echinoderm microtubule-geassocieerd proteïne-achtig 4 (EML4) en anaplastisch lymfoom kinase (ALK). Deze fusie stimuleert oncogene signalering en maakt NCI-H3122 cellen sterk afhankelijk van ALK signalering om te overleven, ook wel bekend als "ALK-verslaafd". NCI-H3122 is een belangrijk model geworden voor het bestuderen van doelgerichte therapieën, met name voor ALK-remmers zoals crizotinib.

Studies hebben aangetoond dat NCI-H3122 cellen gevoelig zijn voor crizotinib, dat de fosforylering van ALK en zijn downstream targets zoals de AKT en ERK pathways remt. Resistentie tegen crizotinib ontwikkelt zich echter vaak, meestal door alternatieve signaalwegen zoals de activering van de epidermale groeifactorreceptor (EGFR). Dit resistentiemechanisme is bevestigd in NCI-H3122 resistente varianten, waarbij verhoogde EGFR fosforylering werd waargenomen, en dubbele remming van ALK en EGFR met crizotinib en EGFR-remmers zoals afatinib of erlotinib bleek de resistentie te overwinnen.

NCI-H3122 wordt vaak gebruikt om combinatietherapieën te onderzoeken die gericht zijn op het voorkomen of omkeren van geneesmiddelenresistentie. Het aanpakken van zowel de ALK- als de EGFR-route is bijvoorbeeld een succesvolle strategie gebleken in preklinische modellen, en deze dubbele remming is voorgesteld als een potentiële therapeutische aanpak voor ALK-positieve, crizotinib-resistente NSCLC-patiënten.

Organism Mens

Tissue Long

Disease Adenocarcinoom

Synonyms NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Kenmerken

Gender Mannelijk

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation NCI-H3122 (Cytion catalogusnummer 300484)

Biosafety level 1

NCI-H3122 Cellen | 300484

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5160**Biomoleculaire gegevens****Omgaan met****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

NCI-H3122 Cellen | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NCI-H3122 Cellen | 300484

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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-allelen

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