

Komórki NCI-H3122 | 300484**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa NCI-H3122 wywodzi się z niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) i charakteryzuje się obecnością genu fuzyjnego EML4-ALK, który jest wynikiem translokacji chromosomalnej między białkiem 4 związanym z mikrotubulami szkarłupni (EML4) a kinazą chłoniaka anaplastycznego (ALK). Ta fuzja napędza sygnalizację onkogenną i sprawia, że komórki NCI-H3122 są wysoce zależne od sygnalizacji ALK w celu przetrwania, znane jako "uzależnione od ALK" NCI-H3122 stał się kluczowym modelem do badania terapii celowanych, w szczególności inhibitorów ALK, takich jak kryzotynib.

Badania wykazały, że komórki NCI-H3122 są wrażliwe na kryzotynib, który hamuje fosforylację ALK i jej dalsze cele, takie jak szlaki AKT i ERK. Jednak często rozwija się oporność na kryzotynib, zwykle z powodu alternatywnych szlaków sygnałowych, takich jak aktywacja receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). Ten mechanizm oporności został potwierdzony w wariantach opornych na NCI-H3122, w których zaobserwowano zwiększoną fosforylację EGFR, a podwójne hamowanie ALK i EGFR przy użyciu kryzotynibu i inhibitorów EGFR, takich jak afatynib lub erlotynib, okazało się przewyciężyć oporność.

NCI-H3122 jest często wykorzystywany do badania terapii skojarzonych mających na celu zapobieganie lub odwracanie oporności na leki. Na przykład, celowanie zarówno w szlaki ALK, jak i EGFR było skuteczną strategią w modelach przedklinicznych, a ta podwójna inhibicja została zasugerowana jako potencjalne podejście terapeutyczne dla pacjentów z NSCLC ALK-dodatnich, opornych na kryzotynib.

Organism Człowiek**Tissue** Płuco**Disease** Gruczolakorak**Synonyms** NCI-H3122, H-3122, NCIH3122**Charakterystyka****Gender** Męczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** NCI-H3122 (numer katalogowy Cytion 300484)**Biosafety level** 1

Komórki NCI-H3122 | 300484**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5160**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

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

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCI-H3122 | 300484**Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil 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

Allele 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