

## Células NCI-H3122 | 300484

## Informações gerais

## Description

A linha celular NCI-H3122 é derivada de cancro do pulmão de células não pequenas (NSCLC) e é caracterizada pela presença do gene de fusão EML4-ALK, que resulta de uma translocação cromossômica entre a proteína equinoderme microtubule-associated protein-like 4 (EML4) e a quinase do linfoma anaplásico (ALK). Esta fusão conduz a uma sinalização oncogénica e torna as células NCI-H3122 altamente dependentes da sinalização ALK para sobreviverem, sendo conhecidas como "ALK-addicted". A célula NCI-H3122 tornou-se um modelo chave para o estudo de terapias direcionadas, particularmente para inibidores da ALK como o crizotinib.

Estudos demonstraram que as células NCI-H3122 são sensíveis ao crizotinib, que inibe a fosforilação da ALK e os seus alvos a jusante, como as vias AKT e ERK. No entanto, a resistência ao crizotinib desenvolve-se frequentemente, normalmente devido a vias de sinalização alternativas, como a ativação do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). Este mecanismo de resistência foi confirmado nas variantes resistentes do NCI-H3122, em que se observou um aumento da fosforilação do EGFR, e a inibição dupla da ALK e do EGFR utilizando crizotinib e inibidores do EGFR, como o afatinib ou o erlotinib, demonstrou ultrapassar a resistência.

O NCI-H3122 é frequentemente utilizado para explorar terapias combinadas com o objetivo de prevenir ou inverter a resistência aos medicamentos. Por exemplo, o tratamento das vias ALK e EGFR tem sido uma estratégia bem sucedida em modelos pré-clínicos, e esta dupla inibição tem sido sugerida como uma potencial abordagem terapêutica para doentes com CPNPC ALK-positivo e resistente ao crizotinib.

**Organism** Humano

**Tissue** Pulmão

**Disease** Adenocarcinoma

**Synonyms** NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

## Caraterísticas

**Gender** Masculino

**Ethnicity** Caucasiano

**Growth properties** Aderente

## Dados regulamentares

**Citation** NCI-H3122 (número de catálogo Cytion 300484)

**Biosafety level** 1

**Células NCI-H3122 | 300484****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_5160**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células NCI-H3122 | 300484

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

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

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage  
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

**Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA****Sterility**

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

**Perfil 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:** 13h15  
**FGA:** 18,21

**Alelos 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