

NCI-H3122-celler | 300484

Allmän information

Description

Cellinjen NCI-H3122 härrör från icke-småcellig lungcancer (NSCLC) och kännetecknas av förekomsten av fusionsgenen EML4-ALK, som är resultatet av en kromosomal translokation mellan EML4 (echinoderm microtubule-associated protein-like 4) och ALK (anaplastic lymphoma kinase). Denna fusion driver onkogen signalering och gör NCI-H3122-cellerna starkt beroende av ALK-signalering för sin överlevnad, så kallade "ALK-beroende" NCI-H3122 har blivit en viktig modell för att studera målinriktade behandlingar, särskilt för ALK-hämmare som crizotinib.

Studier har visat att NCI-H3122-cellerna är känsliga för crizotinib, som hämmar ALK-fosforyleringen och dess nedströmsmål, t.ex. AKT- och ERK-vägarna. Resistens mot crizotinib utvecklas dock ofta, vanligen på grund av alternativa signalvägar som aktivering av den epidermala tillväxtfaktorreceptorn (EGFR). Denna resistensmekanism har bekräftats i resistenta varianter av NCI-H3122, där ökad fosforylering av EGFR observerades, och dubbel hämning av ALK och EGFR med crizotinib och EGFR-hämmare som afatinib eller erlotinib visade sig övervinna resistensen.

NCI-H3122 används ofta för att utforska kombinationsbehandlingar som syftar till att förebygga eller upphäva läkemedelsresistens. Att rikta in sig på både ALK och EGFR har t.ex. varit en framgångsrik strategi i prekliniska modeller, och denna dubbla hämning har föreslagits som en potentiell behandlingsstrategi för ALK-positiva, crizotinibresistenta NSCLC-patienter.

Organism Människan

Tissue Lungan

Disease Adenocarcinom

Synonyms NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Egenskaper

Gender Man

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation NCI-H3122 (Cytion katalognummer 300484)

Biosafety level 1

NCI-H3122-celler | 300484

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_5160

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.**Freeze medium** Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

NCI-H3122-celler | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NCI-H3122-celler | 300484

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

STR-profil

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-alleler

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