

Bunky NCI-H3122 | 300484**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NCI-H3122 je odvodená od nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC) a je charakterizovaná prítomnosťou fúzneho génu EML4-ALK, ktorý vzniká chromozomálnou translokáciou medzi echinoderm microtubule-associated protein-like 4 (EML4) a anaplastickou lymfokinázou (ALK). Táto fúzia riadi onkogénnu signalizáciu a spôsobuje, že bunky NCI-H3122 sú z hľadiska prežitia vysoko závislé od signalizácie ALK, tzv. NCI-H3122 sa stal kľúčovým modelom na štúdium cielej liečby, najmä inhibítorov ALK, ako je crizotinib.

Štúdie ukázali, že bunky NCI-H3122 sú citlivé na crizotinib, ktorý inhibuje fosforyláciu ALK a jeho následné ciele, ako sú dráhy AKT a ERK. Často však vzniká rezistencia na crizotinib, zvyčajne v dôsledku alternatívnych signálnych dráh, ako je aktivácia receptora epidermálneho rastového faktora (EGFR). Tento mechanizmus rezistencie sa potvrdil v rezistentných variantoch NCI-H3122, kde sa pozorovala zvýšená fosforylácia EGFR, a ukázalo sa, že duálna inhibícia ALK a EGFR pomocou crizotinibu a inhibítorov EGFR, ako je afatinib alebo erlotinib, rezistenciu prekonáva.

NCI-H3122 sa často používa na skúmanie kombinovaných terapií zameraných na prevenciu alebo zvrátenie rezistencie na lieky. Napríklad zacielenie na dráhy ALK aj EGFR bolo úspešnou stratégiou v predklinických modeloch a táto duálna inhibícia bola navrhnutá ako potenciálny terapeutický prístup pre ALK-pozitívnych pacientov s NSCLC rezistentných na crizotinib.

Organism Ľudské**Tissue** Pľúca**Disease** Adenokarcinóm**Synonyms** NCI-H3122, H-3122, NCIH3122**Charakteristika****Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** NCI-H3122 (katalógové číslo Cytion 300484)**Biosafety level** 1

Bunky NCI-H3122 | 300484**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_5160**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCI-H3122 | 300484

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

STR profile

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

Alely 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