Product sheet

Клітини NCI-H3122 | 300484

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія NCI-H3122 отримана з недрібноклітинного раку легенів (НДКРЛ) і характеризується наявністю гена злиття EML4-ALK, який є результатом хромосомної транслокації між мікротрубочками, асоційованими з протеїном 4 (EML4) і кіназою анапластичної лімфоми (ALK). Це злиття стимулює онкогенну сигналізацію і робить клітини NCI-H3122 дуже залежними від сигналізації ALK для виживання, відомими як "ALK-залежні" NCI-H3122 стала ключовою моделлю для вивчення таргетної терапії, зокрема, інгібіторів ALK, таких як кризотиніб. Дослідження показали, що клітини NCI-H3122 чутливі до кризотинібу, який пригнічує фосфорилювання ALK та його наступні мішені, такі як AKT та ERK. Однак часто розвивається резистентність до кризотинібу, як правило, через альтернативні сигнальні шляхи, такі як активація рецептора епідермального фактора росту (EGFR). Цей механізм резистентності був підтверджений у резистентних варіантах NCI-H3122, де спостерігалося підвищене фосфорилювання EGFR, і було показано, що подвійне інгібування ALK і EGFR за допомогою кризотинібу та інгібіторів EGFR, таких як афатініб або ерлотиніб, дозволяє подолати резистентність. NCI-H3122 часто використовується для дослідження комбінованої терапії, спрямованої на запобігання або подолання лікарської резистентності. Наприклад, таргетування шляхів ALK та EGFR виявилося успішною стратегією в доклінічних моделях, і таке подвійне інгібування було запропоновано як потенційний терапевтичний підхід для ALK-позитивних пацієнтів з НДКРЛ, резистентних до кризотинібу.
Organism	Людина
Tissue	Легені
Disease	Аденокарцинома
Synonyms	NCI-H3122, H-3122, NCIH3122

Характеристики

Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	NCI-H3122 (номер за каталогом Cytion 300484)

Клітини NCI-H3122 | 300484

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_5160

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO3 (номер за каталожним номером 820700a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Аккутаза
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини NCI-H3122 | 300484

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NCI-H3122 | 300484

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
Профіль 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
HLA алелі	**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