

Buňky NCI-H1975 | 305067

Obecné informace

Description

Buněčná linie NCI-H1975 je dobře zavedený model odvozený od lidského nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC), konkrétně adenokarcinomu. Tato buněčná linie je zvláště významná díky svým duálním mutacím v genu pro receptor epidermálního růstového faktoru (EGFR). Je nositelem aktivační mutace L858R v exonu 21 a mutace T790M v exonu 20, která způsobuje rezistenci k inhibitorům tyrozinkinázy (TKI) první generace, jako jsou gefitinib a erlotinib. Díky těmto genetickým vlastnostem je NCI-H1975 cenným nástrojem pro studium mechanismů rezistence na léky a testování inhibitorů EGFR nové generace.

Mutace T790M mění ATP-vazebnou kapsu EGFR, čímž snižuje účinnost dřívějších inhibitorů EGFR při zachování signální aktivity receptoru. Tato vlastnost vedla k výzkumu inhibitorů třetí generace, jako je osimertinib, které selektivně cílí na mutantní EGFR T790M a zároveň šetří EGFR divokého typu, čímž snižují účinky mimo cíl. Studie využívající NCI-H1975 přispěly k pochopení strukturálních a funkčních dopadů těchto mutací na signální dráhy zprostředkované EGFR, včetně následných účinků na dráhy PI3K/AKT a RAS/RAF/MEK/ERK, které jsou klíčové pro proliferaci a přežití nádorových buněk.

Kromě své role ve výzkumu rezistence k lékům se NCI-H1975 používá v předklinických hodnoceních kombinovaných terapií, jejichž cílem je překonat rezistenci zacílením na více drah. Jeho dobře charakterizovaný genetický a molekulární profil, včetně podrobných údajů o změnách v počtu kopií a mutační krajině, upevnil jeho postavení jako základního modelu při studiu biologie NSCLC a vývoji léčby.

Organism

Člověk

Tissue

Plíce

Disease

Adenokarcinom plic

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Charakteristika

Gender

Ženy

Ethnicity

Evropská

Morphology

Epitelové

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

NCI-H1975 (katalogové číslo Cytion 305067)

Buňky NCI-H1975 | 305067

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1511

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
----------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
-------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
--------------	--

Split ratio	1:2 až 1:4
-------------	------------

Fluid renewal	2 až 3krát týdně
---------------	------------------

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
---------------	--

Buňky NCI-H1975 | 305067

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCI-H1975 | 305067

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.