

NCI-H1975 rakud | 305067

Üldine teave

Description

NCI-H1975 rakuliin on hästi tõestatud mudel, mis on saadud inimese mitteväikerakk-kopsukartsinoomist (NSCLC), täpsemalt adenokartsinoomist. See rakuliin on eriti oluline, kuna selles esineb kaks mutatsiooni epidermise kasvufaktori retseptori (EGFR) geenis. Sellel on aktiveeriv mutatsioon L858R ekson 21 ja mutatsioon T790M ekson 20, mis tekitab resistentsuse esimese põlvkonna türosiinkinaasi inhibiitorite (TKI), nagu gefitiniib ja erlotiniib, suhtes. Need geneetilised omadused muudavad NCI-H1975 väärtuslikuks vahendiks ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks ja järgmise põlvkonna EGFR-inhibiitorite testimiseks.

T790M mutatsioon muudab EGFR-i ATP-sidumistasku, vähendades varasemate EGFR-i inhibiitorite tõhusust, säilitades samas retseptori signaaliaktiivsuse. Selle omaduse tõttu on uuritud kolmanda põlvkonna inhibiitoreid, nagu osimertiniib, mis on selektiivselt suunatud T790M mutandiga EGFR-i vastu, säästes samal ajal metsikut tüüpi EGFR-i, vähendades sihtmärgist kõrvalekalduvaid mõjusid. Uuringud, milles kasutati NCI-H1975, on aidanud mõista nende mutatsioonide struktuurset ja funktsionaalset mõju EGFR-i vahendatud signaaliradadele, sealhulgas allavoolu mõju PI3K/AKT ja RAS/RAF/MEK/ERK radadele, mis on tuumorirakkude proliferatsioonis ja ellujäämises kesksel kohal.

Lisaks sellele, et NCI-H1975 kasutatakse ravimresistentsuse uurimisel, kasutatakse seda ka kombineeritud ravi prekliinilistes hindamistes, mille eesmärk on resistentsuse ületamine mitmete raviradade mõjutamise abil. Selle hästi iseloomustatud geneetiline ja molekulaarne profiil, sealhulgas üksikasjalikud andmed koopiite arvu muutuste ja mutatsioonimaastike kohta, on kindlustanud selle staatuse kui olulise mudeli NSCLC bioloogia ja terapeutilise arengu uurimisel.

Organism

Inimene

Tissue

Kopsud

Disease

Kopsu adenokartsinoom

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Omadused

Gender

Naised

Ethnicity

Euroopa

Morphology

Epiteel

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

NCI-H1975 rakud | 305067

Citation NCI-H1975 (Cytioni katalooginumber 305067)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1511

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820700a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

NCI-H1975 rakud | 305067

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H1975 rakud | 305067

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.