

Cellule NCI-H1975 | 305067

Informazioni generali

Description

La linea cellulare NCI-H1975 è un modello consolidato derivato dal carcinoma polmonare umano non a piccole cellule (NSCLC), in particolare l'adenocarcinoma. Questa linea cellulare è particolarmente significativa per le sue doppie mutazioni nel gene del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR). Presenta la mutazione attivante L858R nell'esone 21 e la mutazione T790M nell'esone 20, che conferisce resistenza agli inibitori della tirosin-chinasi (TKI) di prima generazione, come gefitinib ed erlotinib. Queste caratteristiche genetiche rendono NCI-H1975 uno strumento prezioso per lo studio dei meccanismi di resistenza ai farmaci e per la sperimentazione di inibitori dell'EGFR di nuova generazione.

La mutazione T790M altera la tasca di legame dell'ATP dell'EGFR, riducendo l'efficacia dei precedenti inibitori dell'EGFR pur mantenendo l'attività di segnalazione del recettore. Questa proprietà ha stimolato la ricerca di inibitori di terza generazione, come osimertinib, che colpiscono selettivamente l'EGFR mutante T790M risparmiando l'EGFR di tipo selvatico, riducendo gli effetti fuori bersaglio. Gli studi condotti su NCI-H1975 hanno contribuito a comprendere l'impatto strutturale e funzionale di queste mutazioni sulle vie di segnalazione mediate da EGFR, compresi gli effetti a valle sulle vie PI3K/AKT e RAS/RAF/MEK/ERK, che sono fondamentali per la proliferazione e la sopravvivenza delle cellule tumorali.

Oltre al suo ruolo nella ricerca sulla resistenza ai farmaci, l'NCI-H1975 è impiegato nella valutazione preclinica di terapie combinate che mirano a superare la resistenza agendo su più vie. Il suo profilo genetico e molecolare ben caratterizzato, che include dati dettagliati sulle variazioni del numero di copie e sui paesaggi mutazionali, ha consolidato il suo status di modello essenziale nello studio della biologia del NSCLC e dello sviluppo terapeutico.

Organism

Umano

Tissue

Polmone

Disease

Adenocarcinoma polmonare

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Caratteristiche

Gender

Donna

Ethnicity

Europeo

Morphology

Epiteliale

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Cellule NCI-H1975 | 305067**Citation** NCI-H1975 (catalogo Cytion numero 305067)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1511**Dati biomolecolari****Manipolazione****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio da 1:2 a 1:4**Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule NCI-H1975 | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NCI-H1975 | 305067

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.