

NCI-H1975 ląstelės | 305067

Bendra informacija

Description

NCI-H1975 ląstelių linija yra gerai žinomas žmogaus nesmulkiąstelinės plaučių karcinomos (NSLPV), ypač adenokarcinomos, modelis. Ši ląstelių linija ypač svarbi dėl dvigubų epidermio augimo faktoriaus receptoriaus (EGFR) geno mutacijų. Ji turi aktyvuojančią mutaciją L858R 21 egzone ir mutaciją T790M 20 egzone, kuri suteikia atsparumą pirmos kartos tirozinkinazės inhibitoriams (TKI), tokiems kaip gefitinibas ir erlotinibas. Dėl šių genetinių savybių NCI-H1975 yra vertinga priemonė atsparumo vaistams mechanizmams tirti ir naujos kartos EGFR inhibitoriams išbandyti.

T790M mutacija pakeičia EGFR ATP surišimo kišenę, todėl sumažėja ankstesnių EGFR inhibitorių veiksmingumas, kartu išlaikant receptoriaus signalinį aktyvumą. Ši savybė paskatino trečiosios kartos inhibitorių, tokių kaip osimertinibas, kurie selektyviai veikia T790M mutavusį EGFR, tačiau tausoja laukinio tipo EGFR ir sumažina netikslinį poveikį, tyrimus. Tyrimai, atlikti naudojant NCI-H1975, padėjo suprasti šių mutacijų struktūrinį ir funkcinį poveikį EGFR tarpininkaujamiems signalų keliams, įskaitant tolesnį poveikį PI3K/AKT ir RAS/RAF/MEK/ERK keliams, kurie yra svarbiausi naviko ląstelių dauginimuisi ir išgyvenimui.

NCI-H1975 naudojamas ne tik atsparumo vaistams tyrimams, bet ir ikiklinikiniams kombinuotų gydymo būdų, kuriais siekiama įveikti atsparumą veikiant kelis kelius, vertinimams. Gerai apibūdintas jo genetinis ir molekulinis profilis, įskaitant išsamius duomenis apie kopijų skaičiaus pokyčius ir mutacijų kraštovaizdį, įtvirtino jo, kaip esminio modelio, statusą tiriant NSLPV biologiją ir kuriant gydymą.

Organism

Žmogus

Tissue

Plaučiai

Disease

Plaučių adenokarcinoma

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Charakteristikos

Gender

Moteris

Ethnicity

Europos

Morphology

Epitelis

Growth properties

Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation

NCI-H1975 (Cytion katalogo numeris 305067)

NCI-H1975 ląstelės | 305067

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1511

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
----------------	--

Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
-------------	----------------------------

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

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
--------------	---

Fluid renewal	2-3 kartus per savaitę
---------------	------------------------

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
---------------	---

NCI-H1975 ląstelės | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NCI-H1975 ląstelės | 305067

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.