

NCI-H1975 šūnas | 305067

Vispārīga informācija

Description

NCI-H1975 šūnu līnija ir vispāratzīts modelis, kas atvasināts no cilvēka nedalikocelulārās plaušu karcinomas (NSCLC), īpaši adenokarcinomas. Šī šūnu līnija ir īpaši nozīmīga, jo tai ir divas epidermālā augšanas faktora receptora (EGFR) gēna mutācijas. Tā satur L858R aktivējošo mutāciju 21. eksonā un T790M mutāciju 20. eksonā, kas piešķir rezistenci pret pirmās paaudzes tirozīnkināzes inhibitoriem (TKI), piemēram, gefitinibu un erlotinibu. Šīs ģenētiskās īpašības padara NCI-H1975 par vērtīgu līdzekli zāļu rezistences mehānismu izpētei un nākamās paaudzes EGFR inhibitoru testēšanai.

T790M mutācija izmaina EGFR ATP saistošo kabatu, samazinot agrāko EGFR inhibitoru efektivitāti, vienlaikus saglabājot receptora signalizācijas aktivitāti. Šī īpašība ir veicinājusi pētījumus par trešās paaudzes inhibitoriem, piemēram, osimertinibu, kas selektīvi iedarbojas uz T790M mutantu EGFR, vienlaikus saudzējot savvaļas tipa EGFR, tādējādi samazinot blakussaskares iedarbību. Pētījumi ar NCI-H1975 ir palīdzējuši izprast šo mutāciju strukturālo un funkcionālo ietekmi uz EGFR mediētajiem signālu ceļiem, tostarp pakārtoto ietekmi uz PI3K/AKT un RAS/RAF/MEK/ERK ceļiem, kas ir būtiski audzēja šūnu proliferācijai un izdzīvošanai.

Papildus NCI-H1975 nozīmei rezistences pret zālēm pētījumos to izmanto arī kombinēto terapiju pirmslīniskajos novērtējumos, kuru mērķis ir pārvarēt rezistenci, iedarbojoties uz vairākiem ceļiem. Tās labi raksturotais ģenētiskais un molekulārais profils, tostarp detalizēti dati par kopiju skaita izmaiņām un mutāciju ainavām, ir nostiprinājis tās kā būtiska modeļa statusu NSCLC bioloģijas un terapijas izstrādes pētījumos.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Plaušu adenokarcinoma

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Raksturojums

Gender

Sievietes

Ethnicity

Eiropas

Morphology

Epitēlija

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Citation

NCI-H1975 (Cytion kataloga numurs 305067)

NCI-H1975 šūnas | 305067

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1511

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
----------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
-------------	-------------------------------

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

Subculturing	Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
--------------	--

Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
---------------	------------------------

Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.
---------------	---

NCI-H1975 šūnas | 305067

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCI-H1975 šūnas | 305067

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.