

Komórki NCI-H1975 | 305067

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa NCI-H1975 jest dobrze ugruntowanym modelem pochodzącym z ludzkiego niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC), w szczególności gruczolaka. Ta linia komórkowa jest szczególnie istotna ze względu na podwójne mutacje w genie receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). Zawiera mutację aktywującą L858R w eksonie 21 i mutację T790M w eksonie 20, które nadają oporność na inhibitory kinazy tyrozynowej (TKI) pierwszej generacji, takie jak gefitynib i erlotynib. Te cechy genetyczne sprawiają, że NCI-H1975 jest cennym narzędziem do badania mechanizmów oporności na leki i testowania inhibitorów EGFR nowej generacji.

Mutacja T790M zmienia kieszeń wiążącą ATP w EGFR, zmniejszając skuteczność wcześniejszych inhibitorów EGFR przy jednoczesnym utrzymaniu aktywności sygnalizacyjnej receptora. Ta właściwość doprowadziła do badań nad inhibitorami trzeciej generacji, takimi jak osimertinib, które selektywnie celują w zmutowany EGFR T790M, oszczędzając jednocześnie EGFR typu dzikiego, zmniejszając efekty poza celem. Badania z wykorzystaniem NCI-H1975 przyczyniły się do zrozumienia strukturalnego i funkcjonalnego wpływu tych mutacji na szlaki sygnałowe, w których pośredniczy EGFR, w tym na szlaki PI3K/AKT i RAS/RAF/MEK/ERK, które mają kluczowe znaczenie dla proliferacji i przeżycia komórek nowotworowych.

Oprócz swojej roli w badaniach nad opornością na leki, NCI-H1975 jest stosowany w przedklinicznych ocenach terapii skojarzonych, które mają na celu przezwyciężenie oporności poprzez ukierunkowanie na wiele szlaków. Jego dobrze scharakteryzowany profil genetyczny i molekularny, w tym szczegółowe dane na temat zmian liczby kopii i krajobrazów mutacji, ugruntował jego status jako istotnego modelu w badaniu biologii NSCLC i rozwoju terapii.

Organism

Człowiek

Tissue

Płuco

Disease

Gruczolakorak płuc

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Charakterystyka

Gender

Kobieta

Ethnicity

Europejski

Morphology

Nabłonek

Growth properties

Adherent

Dane regulacyjne

Komórki NCI-H1975 | 305067

Citation	NCI-H1975 (numer katalogowy Cytion 305067)
----------	--

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	9606
------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1511
----------------------	-----------

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820700a)
----------------	---

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
-------------	---------------------------

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

Subculturing	Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
--------------	---

Split ratio	1:2 do 1:4
-------------	------------

Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
---------------	------------------------

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
---------------	---

Komórki NCI-H1975 | 305067**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCI-H1975 | 305067

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.