

Células NCI-H1975 | 305067

Informações gerais

Description

A linha celular NCI-H1975 é um modelo bem estabelecido derivado de carcinoma do pulmão humano de células não pequenas (NSCLC), especificamente adenocarcinoma. Esta linha celular é particularmente significativa devido às suas mutações duplas no gene do recetor do fator de crescimento epidérmico (EGFR). Alberga a mutação activadora L858R no exão 21 e a mutação T790M no exão 20, que confere resistência aos inibidores da tirosina quinase (TKI) de primeira geração, como o gefitinib e o erlotinib. Estas características genéticas fazem do NCI-H1975 uma ferramenta valiosa para estudar os mecanismos de resistência aos medicamentos e testar os inibidores do EGFR da próxima geração.

A mutação T790M altera a bolsa de ligação ao ATP do EGFR, reduzindo a eficácia dos inibidores anteriores do EGFR e mantendo a atividade de sinalização do recetor. Esta propriedade impulsionou a investigação de inibidores de terceira geração, como o osimertinib, que visam seletivamente o EGFR mutante T790M, poupando o EGFR de tipo selvagem e reduzindo os efeitos fora do alvo. Os estudos realizados com o NCI-H1975 contribuíram para a compreensão dos impactos estruturais e funcionais destas mutações nas vias de sinalização mediadas pelo EGFR, incluindo os efeitos a jusante nas vias PI3K/AKT e RAS/RAF/MEK/ERK, que são fundamentais para a proliferação e sobrevivência das células tumorais.

Para além do seu papel na investigação da resistência aos fármacos, o NCI-H1975 é utilizado em avaliações pré-clínicas de terapias combinadas que visam ultrapassar a resistência através da atuação em múltiplas vias. O seu perfil genético e molecular bem caracterizado, incluindo dados detalhados sobre variações do número de cópias e paisagens mutacionais, solidificou o seu estatuto de modelo essencial no estudo da biologia do CPNPC e do desenvolvimento terapêutico.

Organism

Humano

Tissue

Pulmão

Disease

Adenocarcinoma do pulmão

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Caraterísticas

Gender

Feminino

Ethnicity

Europeu

Morphology

Epitelial

Growth properties

Aderente

Dados regulamentares

Células NCI-H1975 | 305067**Citation** NCI-H1975 (número de catálogo Cytion 305067)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1511**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:4**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células NCI-H1975 | 305067

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células NCI-H1975 | 305067

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.