

NCI-H1975 Hücreleri | 305067

Genel bilgi

Description

NCI-H1975 hücre hattı, insan küçük hücreli dışı akciğer karsinomundan (NSCLC), özellikle adenokarsinomdan türetilen iyi kurulmuş bir modeldir. Bu hücre hattı, epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) genindeki ikili mutasyonları nedeniyle özellikle önemlidir. Ekzon 21'de L858R aktive edici mutasyonu ve ekzon 20'de gefitinib ve erlotinib gibi birinci nesil tirozin kinaz inhibitörlerine (TKI'ler) direnç kazandıran T790M mutasyonunu barındırır. Bu genetik özellikler NCI-H1975'i ilaç direnci mekanizmalarını incelemek ve yeni nesil EGFR inhibitörlerini test etmek için değerli bir araç haline getirmektedir.

T790M mutasyonu EGFR'nin ATP-bağlama cebini değiştirerek, reseptör sinyal aktivitesini korurken önceki EGFR inhibitörlerinin etkinliğini azaltır. Bu özellik, T790M mutant EGFR'yi seçici olarak hedeflerken vahşi tip EGFR'yi koruyarak hedef dışı etkileri azaltan osimertinib gibi üçüncü nesil inhibitörlere yönelik araştırmaları yönlendirmiştir. NCI-H1975 kullanılarak yapılan çalışmalar, tümör hücresi proliferasyonu ve sağkalımında çok önemli olan PI3K/AKT ve RAS/RAF/MEK/ERK yolları üzerindeki aşağı akış etkileri de dahil olmak üzere, bu mutasyonların EGFR aracılı sinyal yolları üzerindeki yapısal ve işlevsel etkilerinin anlaşılmasına katkıda bulunmuştur.

İlaç direnci araştırmalarındaki rolüne ek olarak NCI-H1975, birden fazla yolu hedefleyerek direncin üstesinden gelmeyi amaçlayan kombinasyon tedavilerinin klinik öncesi değerlendirmelerinde kullanılmaktadır. Kopya sayısı varyasyonları ve mutasyonel manzaralar hakkında ayrıntılı veriler de dahil olmak üzere iyi karakterize edilmiş genetik ve moleküler profili, NSCLC biyolojisi ve terapötik gelişim çalışmalarında temel bir model olarak statüsünü sağlamlaştırmıştır.

Organism

İnsan

Tissue

Akciğer

Disease

Akciğer adenokarsinomu

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Özellikler

Gender

Kadın

Ethnicity

Avrupa

Morphology

Epitelyal

Growth properties

Yapışık

Düzenleyici Veriler

NCI-H1975 Hücreleri | 305067

Citation NCI-H1975 (Cytion katalog numarası 305067)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1511

Biyomoleküler Veriler

Elleçleme

Culture Medium RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820700a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspanse etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspanse edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

NCI-H1975 Hücreleri | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5 CO₂, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

NCI-H1975 Hücreleri | 305067

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.