

Клетки NCI-H1975 | 305067

Обща информация

Description

Клетъчната линия NCI-H1975 е утвърден модел, получен от човешки недребноклетъчен белодробен карцином (НДКБК), по-специално аденокарцином. Тази клетъчна линия е особено значима поради двойните си мутации в гена на рецептора за епидермален растежен фактор (EGFR). Тя съдържа активиращата мутация L858R в екзон 21 и мутацията T790M в екзон 20, които придават резистентност към тирозин киназните инхибитори (ТКИ) от първо поколение като гефитиниб и ерлотиниб. Тези генетични характеристики правят NCI-H1975 ценен инструмент за изучаване на механизмите на лекарствена резистентност и тестване на следващо поколение инхибитори на EGFR.

Мутацията T790M променя джоба за свързване на АТФ на EGFR, като намалява ефикасността на по-ранните инхибитори на EGFR, като същевременно запазва сигналната активност на рецептора. Това свойство стимулира изследванията на инхибитори от трето поколение, като например osimertinib, които селективно въздействат върху мутирания T790M EGFR, като същевременно щадят дивия тип EGFR, намалявайки ефектите извън целта. Проучванията с NCI-H1975 допринесоха за разбирането на структурните и функционалните въздействия на тези мутации върху сигналните пътища, медираните от EGFR, включително последващите ефекти върху PI3K/AKT и RAS/RAF/MEK/ERK пътищата, които са ключови за пролиферацията и оцеляването на туморните клетки.

В допълнение към ролята си в изследванията на лекарствената резистентност, NCI-H1975 се използва в предклиничните оценки на комбинирани терапии, които целят преодоляване на резистентността чрез въздействие върху множество пътища. Неговият добре характеризиран генетичен и молекулярен профил, включващ подробни данни за вариациите в броя на копията и мутационните ландшафти, затвърди статута му на основен модел в изследването на биологията на NSCLC и разработването на терапии.

Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Белодробен аденокарцином
Synonyms	NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Характеристики

Gender	Жена
Ethnicity	Европейски
Morphology	Епителиален
Growth properties	Придържачи се

Клетки NCI-H1975 | 305067

Регулаторни данни

Citation	NCI-H1975 (каталожен номер 305067 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1511

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1:2 до 1:4
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCI-H1975 | 305067

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCI-H1975 | 305067

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.