

Κύτταρα NCI-H1975 | 305067

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά NCI-H1975 είναι ένα καθιερωμένο μοντέλο που προέρχεται από ανθρώπινο μη μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα (NSCLC), συγκεκριμένα αδenoκαρκίνωμα. Αυτή η κυτταρική σειρά είναι ιδιαίτερα σημαντική λόγω των διπλών μεταλλάξεων στο γονίδιο του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR). Φέρει την ενεργοποιητική μετάλλαξη L858R στο εξώνιο 21 και τη μετάλλαξη T790M στο εξώνιο 20, η οποία προσδίδει ανθεκτικότητα στους αναστολείς κινάσης τυροσίνης πρώτης γενιάς (TKIs), όπως η gefitinib και η erlotinib. Αυτά τα γενετικά χαρακτηριστικά καθιστούν το NCI-H1975 ένα πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη των μηχανισμών αντίστασης στα φάρμακα και τη δοκιμή αναστολέων EGFR νέας γενιάς.

Η μετάλλαξη T790M μεταβάλλει τον θύλακα δέσμευσης ATP του EGFR, μειώνοντας την αποτελεσματικότητα των προηγούμενων αναστολέων του EGFR, διατηρώντας παράλληλα τη σηματοδοτική δραστηριότητα του υποδοχέα. Αυτή η ιδιότητα έχει οδηγήσει στην έρευνα για αναστολείς τρίτης γενιάς, όπως η οσιμερτινίμπη, οι οποίοι στοχεύουν επιλεκτικά τον μεταλλαγμένο EGFR T790M, ενώ συγχρόνως απαλλάσσουν τον EGFR άγριου τύπου, μειώνοντας τις εκτός στόχου επιδράσεις. Μελέτες με τη χρήση του NCI-H1975 συνέβαλαν στην κατανόηση των δομικών και λειτουργικών επιπτώσεων αυτών των μεταλλάξεων στα σηματοδοτικά μονοπάτια που μεσολαβούνται από τον EGFR, συμπεριλαμβανομένων των επακόλουθων επιδράσεων στα μονοπάτια PI3K/AKT και RAS/RAF/MEK/ERK, τα οποία έχουν καθοριστική σημασία για τον πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων.

Εκτός από τον ρόλο του στην έρευνα για την ανθεκτικότητα στα φάρμακα, το NCI-H1975 χρησιμοποιείται σε προκλινικές αξιολογήσεις συνδυασμένων θεραπειών που αποσκοπούν στην αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας με τη στόχευση πολλαπλών μονοπατιών. Το καλά χαρακτηρισμένο γενετικό και μοριακό προφίλ του, συμπεριλαμβανομένων λεπτομερών δεδομένων σχετικά με τις παραλλαγές του αριθμού αντιγράφων και τα μεταλλακτικά τοπία, έχει εδραιώσει τη θέση του ως βασικού μοντέλου στη μελέτη της βιολογίας του NSCLC και της θεραπευτικής ανάπτυξης.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Πνεύμονας

Disease Αδenoκαρκίνωμα του πνεύμονα

Synonyms NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Χαρακτηριστικά

Gender Γυναίκα

Ethnicity Ευρωπαϊκό

Morphology Επιθηλιακό

Κύτταρα NCI-H1975 | 305067

Growth properties

Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.**Split ratio** 1:2 έως 1:4**Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα**Freeze medium** Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

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

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα NCI-H1975 | 305067

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.