

Células NCI-H1975 | 305067

Información general

Description

La línea celular NCI-H1975 es un modelo bien establecido derivado del carcinoma pulmonar humano de células no pequeñas (CPNM), concretamente del adenocarcinoma. Esta línea celular es especialmente significativa debido a su doble mutación en el gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR). Alberga la mutación activadora L858R en el exón 21 y la mutación T790M en el exón 20, que confiere resistencia a los inhibidores de la tirosina cinasa (TKI) de primera generación, como el gefitinib y el erlotinib. Estas características genéticas hacen del NCI-H1975 una herramienta valiosa para estudiar los mecanismos de resistencia a fármacos y probar inhibidores del EGFR de nueva generación.

La mutación T790M altera el bolsillo de unión al ATP del EGFR, lo que reduce la eficacia de los anteriores inhibidores del EGFR al tiempo que mantiene la actividad de señalización del receptor. Esta propiedad ha impulsado la investigación de inhibidores de tercera generación, como el osimertinib, que actúan selectivamente sobre el EGFR mutante T790M sin afectar al EGFR silvestre, reduciendo así los efectos no deseados. Los estudios realizados con el NCI-H1975 han contribuido a comprender los efectos estructurales y funcionales de estas mutaciones en las vías de señalización mediadas por el EGFR, incluidos los efectos descendentes en las vías PI3K/AKT y RAS/RAF/MEK/ERK, que son fundamentales para la proliferación y supervivencia de las células tumorales.

Además de su papel en la investigación de la resistencia a fármacos, el NCI-H1975 se emplea en evaluaciones preclínicas de terapias combinadas que pretenden superar la resistencia actuando sobre múltiples vías. Su perfil genético y molecular bien caracterizado, que incluye datos detallados sobre variaciones en el número de copias y paisajes mutacionales, ha consolidado su estatus como modelo esencial en el estudio de la biología del CPNM y el desarrollo terapéutico.

Organism Humano

Tissue Pulmón

Disease Adenocarcinoma de pulmón

Synonyms NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Características

Gender Mujer

Ethnicity Europea

Morphology Epitelial

Growth properties Adherente

Células NCI-H1975 | 305067

Datos reglamentarios

Citation NCI-H1975 (número de catálogo de Cytion 305067)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1511

Datos biomoleculares

Manejo de

Culture Medium RPMI 1640, con: 2,0 mM de glutamina estable, con: 2,0 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820700a)

Supplements Complementar el medio con un 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

Split ratio 1:2 a 1:4

Fluid renewal de 2 a 3 veces por semana

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células NCI-H1975 | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células NCI-H1975 | 305067

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.