

NCI-H1975-solut | 305067

Yleisiä tietoja

Description

NCI-H1975-solulinja on vakiintunut malli, joka on peräisin ihmisen ei-pienisoluisesta keuhkosyövästä (NSCLC), erityisesti adenokarsinoomasta. Tämä solulinja on erityisen merkittävä, koska siinä on kaksi mutaatiota epidermisen kasvutekijän reseptorin (EGFR) geenissä. Siinä on eksonissa 21 aktivoiva L858R-mutaatio ja eksonissa 20 T790M-mutaatio, jotka aiheuttavat resistenssin ensimmäisen sukupolven tyrosiinikinaasin estäjille (TKI), kuten gefitinibille ja erlotinibille. Nämä geneettiset ominaisuudet tekevät NCI-H1975:stä arvokkaan välineen lääkeresistenssimekanismien tutkimiseen ja seuraavan sukupolven EGFR-estäjien testaamiseen.

T790M-mutaatio muuttaa EGFR:n ATP:tä sitovaa taskua, mikä vähentää aiempien EGFR:n estäjien tehoa säilyttäen samalla reseptorin signaaliaktiivisuuden. Tämä ominaisuus on johtanut kolmannen sukupolven inhibiittoreiden, kuten osimertinibin, tutkimukseen. Nämä inhibiittorit kohdistuvat valikoivasti T790M-mutaatio EGFR:ään ja säästävät samalla villityypistä EGFR:ää, mikä vähentää vaikutusten kohdistumista muuhun kuin kohteeseen. NCI-H1975:llä tehdyt tutkimukset ovat auttaneet ymmärtämään näiden mutaatioiden rakenteellisia ja toiminnallisia vaikutuksia EGFR:n välittämiin signaalireitteihin, mukaan luettuina vaikutukset PI3K/AKT- ja RAS/RAF/MEK/ERK-reitteihin, jotka ovat keskeisiä kasvainsolujen lisääntymisen ja eloonjäämisen kannalta.

Sen lisäksi, että NCI-H1975:tä käytetään lääkeresistenssin tutkimuksessa, sitä käytetään sellaisten yhdistelmähoitojen prekliinisissä arvioinneissa, joilla pyritään voittamaan resistenssi kohdistamalla se useisiin reitteihin. Sen hyvin karakterisoitu geneettinen ja molekyyliprofiili, mukaan lukien yksityiskohtaiset tiedot kopiomäärävaihteluista ja mutaatiomaisemista, on vahvistanut sen asemaa keskeisenä mallina NSCLC:n biologian ja terapeuttisen kehityksen tutkimuksessa.

Organism	Ihminen
Tissue	Keuhkot
Disease	Keuhkojen adenokarsinooma
Synonyms	NCI-H1975, H-1975, NCIH1975, NCIH1975

Ominaisuudet

Gender	Nainen
Ethnicity	Eurooppalainen
Morphology	Epiteeli
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

NCI-H1975-solut | 305067

Citation	NCI-H1975 (Cytionin luettelonumero 305067)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1511

Biomolekyytitiedot

Käsittely

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Split ratio	1:2 - 1:4
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NCI-H1975-solut | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCI-H1975-solut | 305067

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.