

Cellules NCI-H1975 | 305067

Informations générales

Description

La lignée cellulaire NCI-H1975 est un modèle bien établi dérivé du carcinome pulmonaire non à petites cellules (CPNPC) humain, plus précisément de l'adénocarcinome. Cette lignée cellulaire est particulièrement importante en raison de ses doubles mutations dans le gène du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). Elle héberge la mutation activatrice L858R dans l'exon 21 et la mutation T790M dans l'exon 20, qui confère une résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) de première génération tels que le géfitinib et l'erlotinib. Ces caractéristiques génétiques font de NCI-H1975 un outil précieux pour étudier les mécanismes de résistance aux médicaments et tester les inhibiteurs de l'EGFR de nouvelle génération.

La mutation T790M modifie la poche de liaison à l'ATP de l'EGFR, réduisant l'efficacité des premiers inhibiteurs de l'EGFR tout en maintenant l'activité de signalisation du récepteur. Cette propriété a motivé la recherche d'inhibiteurs de troisième génération, tels que l'osimertinib, qui ciblent sélectivement l'EGFR mutant T790M tout en épargnant l'EGFR de type sauvage, réduisant ainsi les effets hors cible. Les études réalisées avec NCI-H1975 ont contribué à la compréhension des impacts structurels et fonctionnels de ces mutations sur les voies de signalisation médiées par l'EGFR, y compris les effets en aval sur les voies PI3K/AKT et RAS/RAF/MEK/ERK, qui jouent un rôle essentiel dans la prolifération et la survie des cellules tumorales.

Outre son rôle dans la recherche sur la résistance aux médicaments, NCI-H1975 est utilisé dans les évaluations précliniques de thérapies combinées qui visent à surmonter la résistance en ciblant plusieurs voies. Son profil génétique et moléculaire bien caractérisé, comprenant des données détaillées sur les variations du nombre de copies et les paysages mutationnels, a consolidé son statut de modèle essentiel dans l'étude de la biologie du CBNPC et du développement thérapeutique.

Organism	Humain
Tissue	Poumon
Disease	Adénocarcinome pulmonaire
Synonyms	NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Caractéristiques

Gender	Femme
Ethnicity	Européen
Morphology	Épithéliale
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Cellules NCI-H1975 | 305067

Citation NCI-H1975 (numéro de catalogue Cytion 305067)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1511

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium RPMI 1640, w : 2.0 mM Glutamine stable, w : 2.0 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820700a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.

Split ratio 1:2 à 1:4

Fluid renewal 2 à 3 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules NCI-H1975 | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules NCI-H1975 | 305067

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.