

NCI-H1975 sejtek | 305067

Általános információk

Description

Az NCI-H1975 sejtvonal egy jól bevált modell, amely humán nem kissejtes tüdőrákból (NSCLC), különösen adenokarcinómából származik. Ez a sejtvonal különösen jelentős az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) gén kettős mutációja miatt. A 21-es exonban L858R aktiváló mutációt és a 20-as exonban T790M mutációt tartalmaz, amely rezisztenciát biztosít az első generációs tirozinkináz-inhibitorokkal (TKI-k), például a gefitinib és az erlotinib ellen. Ezek a genetikai jellemzők teszik az NCI-H1975-öt értékes eszközzé a gyógyszerrezisztencia mechanizmusainak tanulmányozásához és az új generációs EGFR-inhibitorok teszteléséhez.

A T790M mutáció megváltoztatja az EGFR ATP-kötő zsebét, csökkentve a korábbi EGFR-gátlók hatékonyságát, miközben fenntartja a receptor jelátviteli aktivitását. Ez a tulajdonság ösztönözte a harmadik generációs inhibitorok, például az osimertinib kutatását, amelyek szelektíven a T790M mutáns EGFR-t célozzák, miközben kímélik a vad típusú EGFR-t, csökkentve a célponton kívüli hatásokat. Az NCI-H1975-tel végzett vizsgálatok hozzájárultak e mutációknak az EGFR által közvetített jelátviteli útvonalakra gyakorolt szerkezeti és funkcionális hatásainak megértéséhez, beleértve a PI3K/AKT és a RAS/RAF/MEK/ERK útvonalakra gyakorolt downstream hatásokat, amelyek kulcsfontosságúak a tumorsejtek proliferációjában és túlélésében.

A gyógyszerrezisztencia kutatásában betöltött szerepe mellett az NCI-H1975-öt olyan kombinált terápiák preklinikai értékelésében is alkalmazzák, amelyek célja a rezisztencia leküzdése több útvonal megcélzásával. Jól jellemzett genetikai és molekuláris profilja, beleértve a kópiaszám-változásokra és a mutációs tájképekre vonatkozó részletes adatokat, megszilárdította státuszát, mint az NSCLC biológiájának és a terápiás fejlesztésnek a tanulmányozásában nélkülözhetetlen modell.

Organism

Emberi

Tissue

Tüdő

Disease

Tüdő adenokarcinóma

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Jellemzők

Gender

Női

Ethnicity

Európai

Morphology

Epithelialis

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

NCI-H1975 sejtek | 305067

Citation	NCI-H1975 (Cytion katalógusszám: 305067)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_1511
-----------------------------	-----------

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
-----------------------	---

Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

Split ratio	1:2-1:4
--------------------	---------

Fluid renewal	hetente 2-3 alkalommal
----------------------	------------------------

Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.
----------------------	---

NCI-H1975 sejtek | 305067

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCI-H1975 sejtek | 305067

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.