

NCI-H1373 šūnas | 305597

Vispārīga informācija

Description

Šūnu līnija NCI-H1373 ir cilvēka nesīkšūnu plaušu karcinomas (NSCLC) modelis, kurā ir KRAS G12C mutācija, kas bieži saistīta ar onkogēnēzi plaušu adenokarcinomā. Šī mutācija izraisa tālāk esošo signālceļu, piemēram, mitogēnu aktivētās proteīnu kināzes (MAPK) un fosfoinozītīda 3-kināzes (PI3K) ceļu, konstitutīvu aktivāciju, veicinot audzēja proliferāciju un izdzīvošanu. NCI-H1373 tiek plaši izmantota pētījumos, lai novērtētu jaunu terapeitisko līdzekļu efektivitāti, kas vērsti pret KRAS G12C un saistītajiem onkogēnajiem signālceļiem.

Pirmsklīniskajos pētījumos NCI-H1373 ir izmantots, lai novērtētu jauno KRAS G12C inhibitoru, piemēram, ASP2453, aktivitāti. Šis inhibitors parādīja spēcīgu, selektīvu un kovalentu saistīšanos ar mutēto KRAS proteīnu, in vitro nomācot KRAS-mediēto signālu pārraidi un audzēja šūnu proliferāciju. Šo šūnu līniju izmantoja arī ksenotransplantātu modeļos, kur ASP2453 izraisīja ievērojamu audzēja regresiju. Šī aktivitāte uzsver NCI-H1373 lietderību, lai izprastu jauno KRAS inhibitoru terapeitisko potenciālu un darbības mehānismus.

Turklāt NCI-H1373 ir izmantota genoma mēroga CRISPR izslēgšanas skrīningos, lai izpētītu rezistences mehānismus pret PARP7 inhibitoriem. Rezultāti atklāja, ka arilhidrokarbonu receptora (AHR) signālceļa zudums ir saistīts ar rezistenci pret PARP7 inhibīciju, kas liecina par iespējamām kombinēto terapiju stratēģijām. Šādi pētījumi parāda šīs šūnu līnijas nozīmi rezistences ceļu identificēšanā un mērķtiecīgu terapiju optimizēšanā KRAS G12C mutācijas nesējiem ar neplaušu mazšūnu vēzi (NSCLC).

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Adenokarcinoma

Synonyms

H1373, H-1373, NCIH1373

Raksturojums

Age

56 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Afroamerikānis

Morphology

Epitēlijevīdīgs

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

NCI-H1373 šūnas | 305597

Citation NCI-H1373 (Cytion kataloga numurs 305597)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1465

Biomolekulārie dati

Mutational profile Mutācija: KRAS, p.Gly12Cys (c.34G>T), homozigota; Mutācija: TP53, p.Pro47Leu (c.140C>T), homozigota

Darbs ar

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar TrypLE Express, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

NCI-H1373 šūnas | 305597

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

NCI-H1373 šūnas | 305597

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.