

Celule NCI-H1975 | 305067

Informații generale

Description

Linia celulară NCI-H1975 este un model bine stabilit derivat din carcinomul pulmonar uman cu celule non-small (NSCLC), în special adenocarcinom. Această linie celulară este deosebit de importantă datorită mutațiilor sale duble în gena receptorului factorului de creștere epidermic (EGFR). Aceasta conține mutația de activare L858R în exonul 21 și mutația T790M în exonul 20, care conferă rezistență la inhibitorii de tirozin kinază (TKI) de primă generație, precum gefitinib și erlotinib. Aceste caracteristici genetice fac din NCI-H1975 un instrument valoros pentru studierea mecanismelor de rezistență la medicamente și testarea inhibitorilor EGFR de nouă generație.

Mutația T790M modifică buzunarul de legare ATP al EGFR, reducând eficacitatea inhibitorilor EGFR anteriori, menținând în același timp activitatea de semnalizare a receptorului. Această proprietate a condus la cercetarea inhibitorilor de a treia generație, cum ar fi osimertinib, care vizează selectiv EGFR mutant T790M, păstrând în același timp EGFR de tip sălbatic, reducând efectele în afara țintei. Studiile care utilizează NCI-H1975 au contribuit la înțelegerea impactului structural și funcțional al acestor mutații asupra căilor de semnalizare mediate de EGFR, inclusiv efectele în aval asupra căilor PI3K/AKT și RAS/RAF/MEK/ERK, care sunt esențiale în proliferarea și supraviețuirea celulelor tumorale.

În plus față de rolul său în cercetarea rezistenței la medicamente, NCI-H1975 este utilizat în evaluările preclinice ale terapiilor combinate care vizează depășirea rezistenței prin țintirea mai multor căi. Profilul său genetic și molecular bine caracterizat, inclusiv date detaliate privind variațiile numărului de copii și peisajele mutaționale, a consolidat statutul său de model esențial în studiul biologiei NSCLC și al dezvoltării terapeutice.

Organism Om

Tissue Plămân

Disease Adenocarcinom pulmonar

Synonyms NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Caracteristici

Gender Femei

Ethnicity Europeană

Morphology Epitelial

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Celule NCI-H1975 | 305067

Citation	NCI-H1975 (număr de catalog Cytion 305067)
-----------------	--

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

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

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

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
---------------------	--

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

Fluid renewal	de 2 până la 3 ori pe săptămână
----------------------	---------------------------------

Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.
----------------------	---

Celule NCI-H1975 | 305067**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NCI-H1975 | 305067

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.