

Bunky NCI-H1975 | 305067**Všeobecné informácie****Description**

Bunková línia NCI-H1975 je dobre zavedený model odvodený od ľudského nemalobunkového karcinómu pľúc (NSCLC), konkrétne adenokarcinómu. Táto bunková línia je obzvlášť významná vďaka dvojitým mutáciám v géne pre receptor epidermálneho rastového faktora (EGFR). Obsahuje aktivačnú mutáciu L858R v exóne 21 a mutáciu T790M v exóne 20, ktorá spôsobuje rezistenciu na inhibítory tyrozínkinázy (TKI) prvej generácie, ako sú gefitinib a erlotinib. Tieto genetické vlastnosti robia z NCI-H1975 cenný nástroj na štúdium mechanizmov rezistencie na lieky a testovanie inhibítorov EGFR novej generácie.

Mutácia T790M mení ATP-viažucu kapsu EGFR, čím znižuje účinnosť predchádzajúcich inhibítorov EGFR a zároveň zachováva signalizačnú aktivitu receptora. Táto vlastnosť podnietila výskum inhibítorov tretej generácie, ako je napríklad osimertinib, ktoré selektívne zasahujú mutantný EGFR T790M, pričom šetria divoký typ EGFR, čím znižujú účinky mimo cieľa. Štúdie s použitím NCI-H1975 prispeli k pochopeniu štrukturálnych a funkčných vplyvov týchto mutácií na signálne dráhy sprostredkované EGFR vrátane následných účinkov na dráhy PI3K/AKT a RAS/RAF/MEK/ERK, ktoré sú kľúčové pri proliferácii a prežívaní nádorových buniek.

Okrem úlohy vo výskume rezistencie na lieky sa NCI-H1975 používa v predklinických hodnoteniach kombinovaných terapií, ktorých cieľom je prekonať rezistenciu zameraním sa na viaceré dráhy. Jeho dobre charakterizovaný genetický a molekulárny profil vrátane podrobných údajov o zmenách v počte kópií a mutačnom prostredí upevnil jeho postavenie ako základného modelu pri štúdiu biológie NSCLC a vývoji liečby.

Organism Ľudské**Tissue** Pľúca**Disease** Adenokarcinóm pľúc**Synonyms** NCI-H1975, H-1975, NCIH1975**Charakteristika****Gender** Ženy**Ethnicity** Európska**Morphology** Epitelové**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** NCI-H1975 (katalógové číslo Cytion 305067)

Bunky NCI-H1975 | 305067

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1511

Biomolekulárne údaje**Spracovanie**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
-----------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
--------------------	---------------------------

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

Subculturing	Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.
---------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

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

Fluid renewal	2 až 3-krát týždenne
----------------------	----------------------

Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.
----------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Bunky NCI-H1975 | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCI-H1975 | 305067

**Storage
Conditions**

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.