

Celice NCI-H1975 | 305067

Splošne informacije

Description

Celična linija NCI-H1975 je uveljavljen model, ki izhaja iz človeškega nedrobnoceličnega pljučnega karcinoma (NSCLC), zlasti adenokarcinoma. Ta celična linija je še posebej pomembna zaradi dvojnih mutacij v genu za receptor epidermalnega rastnega faktorja (EGFR). Vsebuje aktivacijsko mutacijo L858R v eksonu 21 in mutacijo T790M v eksonu 20, ki dajeta odpornost na zaviralce tirozinske kinaze (TKI) prve generacije, kot sta gefitinib in erlotinib. Zaradi teh genetskih značilnosti je NCI-H1975 dragoceno orodje za preučevanje mehanizmov odpornosti na zdravila in testiranje inhibitorjev EGFR naslednje generacije.

Mutacija T790M spreminja žep za vezavo ATP v EGFR, kar zmanjšuje učinkovitost prejšnjih zaviralcev EGFR, hkrati pa ohranja signalno aktivnost receptorja. Ta lastnost je spodbudila raziskave inhibitorjev tretje generacije, kot je osimertinib, ki selektivno delujejo na mutacijo T790M EGFR, hkrati pa varčujejo EGFR divjega tipa, kar zmanjšuje učinke izven cilja. Študije z NCI-H1975 so prispevale k razumevanju strukturnih in funkcionalnih vplivov teh mutacij na signalne poti, ki jih posreduje EGFR, vključno z nadaljnjimi učinki na poti PI3K/AKT in RAS/RAF/MEK/ERK, ki so ključne za proliferacijo in preživetje tumorskih celic.

Poleg vloge pri raziskavah odpornosti na zdravila se NCI-H1975 uporablja pri predkliničnih ocenah kombiniranih terapij, katerih cilj je premagati odpornost z delovanjem na več poti. Njegov dobro opisan genetski in molekularni profil, vključno s podrobnimi podatki o spremembah števila kopij in mutacijskih pokrajinah, je utrdil njegov status bistvenega modela pri preučevanju biologije NSCLC in razvoju terapij.

Organism Človek

Tissue Pljuča

Disease Pljučni adenokarcinom

Synonyms NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Značilnosti

Gender Ženske

Ethnicity Evropski

Morphology Epitelijski

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation NCI-H1975 (kataloška številka Cytion 305067)

Celice NCI-H1975 | 305067

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1511

Biomolekularni podatki**Ravnanje s spletno stranjo**

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
--------------------	------------------------------

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

Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
---------------------	--

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

Fluid renewal	2 do 3-krat na teden
----------------------	----------------------

Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.
----------------------	--

Celice NCI-H1975 | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCI-H1975 | 305067

**Storage
Conditions**

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.