Product sheet

Cellules NCI-H1975 | 305067

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire NCI-H1975 est un modèle bien établi dérivé d'un carcinome pulmonaire non à petites cellules (CPNPC) humain, plus précisément d'un adénocarcinome. Cette lignée cellulaire revêt une importance particulière en raison de ses deux mutations dans le gène du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). Elle porte la mutation activatrice L858R dans l'exon 21 et la mutation T790M dans l'exon 20, ce qui lui confère une résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK) de première génération, tels que le géfitinib et l'erlotinib. Ces caractéristiques génétiques font de la lignée NCI-H1975 un outil précieux pour l'étude des mécanismes de résistance aux médicaments et pour l'évaluation des inhibiteurs de l'EGFR de nouvelle génération. La mutation T790M modifie la poche de liaison à l'ATP de l'EGFR, réduisant ainsi l'efficacité des inhibiteurs d'EGFR antérieurs tout en maintenant l'activité de signalisation du récepteur. Cette propriété a stimulé la recherche sur les inhibiteurs de troisième génération, tels que l'osimertinib, qui ciblent sélectivement l'EGFR mutant T790M tout en épargnant l'EGFR de type sauvage, réduisant ainsi les effets hors cible. Les études menées à l'aide de la souche NCI-H1975 ont contribué à la compréhension des répercussions structurelles et fonctionnelles de ces mutations sur les voies de signalisation médiées par l'EGFR, y compris les effets en aval sur les voies PI3K/AKT et RAS/RAF/MEK/ERK, qui jouent un rôle central dans la prolifération et la survie des cellules tumorales. Outre son rôle dans la recherche sur la résistance aux médicaments, la lignée NCI-H1975 est utilisée dans les évaluations précliniques de thérapies combinées visant à surmonter la résistance en ciblant plusieurs voies. Son profil génétique et moléculaire bien caractérisé, comprenant des données détaillées sur les variations du nombre de copies et les profils mutationnels, a consolidé son statut de modèle essentiel dans l'étude de la biologie du CPNPC et le développement thérapeutique.
Organism	Humain
Tissue	Poumon
Disease	Adénocarcinome pulmonaire
Synonyms	NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Caractéristiques

Gender	Femme
Ethnicity	européen
Morphology	Épithélial
Growth properties	Adepte

Cellules NCI-H1975 | 305067

Données réglementaires

Citation	NCI-H1975 (numéro de catalogue Cytion 305067)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1511

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	RPMI 1640, contenant 2,0 mM de glutamine stable et 2,0 g/L de $NaHCO_3$ (numéro d'article Cytion 820700a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.
Fluid renewal	2 à 3 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules NCI-H1975 | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.