

NCI-H1975-Zellen | 305067

Allgemeine Informationen

Description

Die NCI-H1975-Zelllinie ist ein gut etabliertes Modell, das vom menschlichen nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC), insbesondere dem Adenokarzinom, abgeleitet ist. Diese Zelllinie ist aufgrund ihrer doppelten Mutationen im Gen für den epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR) von besonderer Bedeutung. Sie trägt die aktivierende Mutation L858R in Exon 21 und die Mutation T790M in Exon 20, die eine Resistenz gegen Tyrosinkinase-Inhibitoren (TKI) der ersten Generation wie Gefitinib und Erlotinib verleiht. Diese genetischen Merkmale machen NCI-H1975 zu einem wertvollen Instrument für die Untersuchung von Arzneimittelresistenzmechanismen und die Erprobung von EGFR-Inhibitoren der nächsten Generation.

Die T790M-Mutation verändert die ATP-Bindungstasche des EGFR, wodurch die Wirksamkeit früherer EGFR-Inhibitoren verringert wird, während die Signalaktivität des Rezeptors erhalten bleibt. Diese Eigenschaft hat die Forschung an Hemmstoffen der dritten Generation, wie Osimertinib, vorangetrieben, die selektiv auf die T790M-Mutation des EGFR abzielen, während der Wildtyp-EGFR verschont bleibt, wodurch Off-Target-Effekte reduziert werden. Studien mit NCI-H1975 haben dazu beigetragen, die strukturellen und funktionellen Auswirkungen dieser Mutationen auf EGFR-vermittelte Signalwege zu verstehen, einschließlich nachgeschalteter Effekte auf PI3K/AKT- und RAS/RAF/MEK/ERK-Signalwege, die für die Vermehrung und das Überleben von Tumorzellen entscheidend sind.

Neben seiner Rolle in der Arzneimittelresistenzforschung wird NCI-H1975 in präklinischen Untersuchungen von Kombinationstherapien eingesetzt, die darauf abzielen, die Resistenz zu überwinden, indem sie auf mehrere Signalwege abzielen. Sein gut charakterisiertes genetisches und molekulares Profil, einschließlich detaillierter Daten zu Kopienzahlvariationen und Mutationslandschaften, hat seinen Status als wichtiges Modell für die Untersuchung der Biologie des NSCLC und die Entwicklung von Therapien gefestigt.

Organism Menschen

Tissue Lunge

Disease Adenokarzinom der Lunge

Synonyms NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Merkmale

Gender Weiblich

Ethnicity Europäisch

Morphology Epithelial

Growth properties Adhärent

NCI-H1975-Zellen | 305067

Regulatorische Daten

Citation	NCI-H1975 (Cytion-Katalognummer 305067)
-----------------	---

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

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

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

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)
-----------------------	--

Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
--------------------	-------------------------------------

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

Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
---------------------	---

Split ratio	1:2 bis 1:4
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.
----------------------	---

NCI-H1975-Zellen | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NCI-H1975-Zellen | 305067

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.