

NCI-H1975 Cellen | 305067

Algemene informatie

Description

De NCI-H1975 cellijn is een beproefd model afgeleid van humaan niet-kleincellig longcarcinoom (NSCLC), specifiek adenocarcinoom. Deze cellijn is vooral belangrijk vanwege de dubbele mutaties in het gen voor de epidermale groeifactorreceptor (EGFR). Ze bevat de L858R activerende mutatie in exon 21 en de T790M mutatie in exon 20, die resistentie geeft tegen eerste-generatie tyrosinekinaseremmers (TKI's) zoals gefitinib en erlotinib. Deze genetische eigenschappen maken NCI-H1975 een waardevol hulpmiddel voor het bestuderen van resistentiemechanismen tegen geneesmiddelen en het testen van EGFR-remmers van de volgende generatie.

De T790M-mutatie verandert de ATP-bindingszak van EGFR, waardoor de werkzaamheid van eerdere EGFR-remmers afneemt terwijl de receptorsignaleringsactiviteit behouden blijft. Deze eigenschap heeft geleid tot onderzoek naar derde-generatie remmers, zoals osimertinib, die zich selectief richten op T790M mutant EGFR terwijl wild-type EGFR gespaard blijft, waardoor off-target effecten worden verminderd. Studies met NCI-H1975 hebben bijgedragen aan het begrip van de structurele en functionele effecten van deze mutaties op EGFR-gemedieerde signaalroutes, inclusief downstream effecten op PI3K/AKT en RAS/RAF/MEK/ERK routes, die cruciaal zijn voor de proliferatie en overleving van tumorcellen.

Naast zijn rol in onderzoek naar resistentie tegen geneesmiddelen wordt NCI-H1975 gebruikt in preklinische evaluaties van combinatietherapieën die erop gericht zijn resistentie te overwinnen door meerdere routes aan te pakken. Haar goed gekarakteriseerde genetische en moleculaire profiel, inclusief gedetailleerde gegevens over kopiegetalvariaties en mutatielandschappen, heeft haar status als essentieel model voor het bestuderen van de biologie van NSCLC en therapeutische ontwikkeling verstevigd.

Organism

Mens

Tissue

Long

Disease

Longadenocarcinoom

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Kenmerken

Gender

Vrouw

Ethnicity

Europese

Morphology

Epitheel

Growth properties

Aanhangend

Regelgevende gegevens

NCI-H1975 Cellen | 305067

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

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

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

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

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Subculturing	Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.
---------------------	--

Split ratio	1:2 tot 1:4
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
----------------------	-----------------------

Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.
----------------------	--

NCI-H1975 Cellen | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NCI-H1975 Cellen | 305067

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.