

NCI-H1975-celler | 305067

Generell informasjon

Description

NCI-H1975-cellelinjen er en veletablert modell avledet fra humant ikke-småcellet lungekarsinom (NSCLC), nærmere bestemt adenokarsinom. Denne cellelinjen er spesielt viktig på grunn av sine doble mutasjoner i EGFR-genet (epidermal vekstfaktorreseptor). Den har den aktiverende mutasjonen L858R i ekson 21 og mutasjonen T790M i ekson 20, som gir resistens mot førstegenerasjons tyrosinkinasehemmere (TKI-er) som gefitinib og erlotinib. Disse genetiske egenskapene gjør NCI-H1975 til et verdifullt verktøy for å studere resistensmekanismer og teste neste generasjons EGFR-hemmere.

T790M-mutasjonen endrer den ATP-bindende lommen i EGFR, noe som reduserer effekten av tidligere EGFR-hemmere, samtidig som reseptorens signalaktivitet opprettholdes. Denne egenskapen har drevet frem forskning på tredjegerasjonshemmere, som osimertinib, som selektivt retter seg mot T790M-mutant EGFR, samtidig som villtype EGFR skånes, noe som reduserer off-target-effekter. Studier med NCI-H1975 har bidratt til å forstå de strukturelle og funksjonelle virkningene av disse mutasjonene på EGFR-medierte signalveier, inkludert nedstrøms effekter på PI3K/AKT- og RAS/RAF/MEK/ERK-veiene, som er sentrale for spredning og overlevelse av tumorceller.

I tillegg til sin rolle i forskning på legemiddelresistens, brukes NCI-H1975 i prekliniske evalueringer av kombinasjonsbehandlinger som tar sikte på å overvinne resistens ved å rette seg mot flere veier. Den velkarakteriserte genetiske og molekylære profilen, inkludert detaljerte data om kopitallvariasjoner og mutasjonslandskap, har befestet dens status som en viktig modell i studier av NSCLC-biologi og terapiutvikling.

Organism

Menneskelig

Tissue

Lunge

Disease

Adenokarsinom i lungene

Synonyms

NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Kjennetegn

Gender

Kvinne

Ethnicity

Europeisk

Morphology

Epitelial

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

NCI-H1975-celler | 305067

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

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

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

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

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
--------------------	-----------------------------

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

Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
---------------------	---

Split ratio	1:2 til 1:4
--------------------	-------------

Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke
----------------------	------------------------

Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.
----------------------	---

NCI-H1975-celler | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCI-H1975-celler | 305067

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.