

NCI-H1975-celler | 305067

Generel information

Description

NCI-H1975-cellelinjen er en veletableret model, der stammer fra humant ikke-småcellet lungekarcinom (NSCLC), specifikt adenokarcinom. Denne cellelinje er særlig vigtig på grund af dens dobbelte mutationer i genet for den epidermale vækstfaktorreceptor (EGFR). Den har den aktiverende mutation L858R i exon 21 og mutationen T790M i exon 20, som giver resistens over for førstegenerations tyrosinkinasehæmmere (TKI'er) som gefitinib og erlotinib. Disse genetiske egenskaber gør NCI-H1975 til et værdifuldt værktøj til at studere resistensmekanismer og teste næste generation af EGFR-hæmmere.

T790M-mutationen ændrer den ATP-bindende lomme i EGFR, hvilket reducerer effekten af tidligere EGFR-hæmmere, samtidig med at receptorens signalaktivitet opretholdes. Denne egenskab har drevet forskning i tredjegerationshæmmere, såsom osimertinib, som selektivt retter sig mod T790M-mutant EGFR, mens de skåner vildtype EGFR, hvilket reducerer off-target-effekter. Undersøgelser med NCI-H1975 har bidraget til at forstå de strukturelle og funktionelle virkninger af disse mutationer på EGFR-medierede signalveje, herunder downstream-effekter på PI3K/AKT- og RAS/RAF/MEK/ERK-veje, som er centrale for tumorcellers spredning og overlevelse.

Ud over sin rolle i forskning i lægemiddelresistens anvendes NCI-H1975 i prækliniske evalueringer af kombinationsbehandlinger, der sigter mod at overvinde resistens ved at målrette mod flere veje. Dens velkarakteriserede genetiske og molekylære profil, herunder detaljerede data om kopinummervariationer og mutationslandskaber, har styrket dens status som en vigtig model i studiet af NSCLC-biologi og terapeutisk udvikling.

Organism Menneske

Tissue Lunge

Disease Adenokarcinom i lungerne

Synonyms NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Karakteristika

Gender Kvinde

Ethnicity Europæisk

Morphology Epitelial

Growth properties Vedhæftende

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 NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løse dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio 1:2 til 1:4

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoreskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

NCI-H1975-celler | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NCI-H1975-celler | 305067

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.