

NCI-H1975-celler | 305067

Allmän information

Description

Cellinjen NCI-H1975 är en väletablerad modell som härrör från humant icke-småcelligt lungkarcinom (NSCLC), specifikt adenokarcinom. Denna cellinje är särskilt betydelsefull på grund av sina dubbla mutationer i EGFR-genen (epidermal growth factor receptor). Den har den aktiverande mutationen L858R i exon 21 och mutationen T790M i exon 20, som ger resistens mot första generationens tyrosinkinashämmare (TKI) som gefitinib och erlotinib. Dessa genetiska egenskaper gör NCI-H1975 till ett värdefullt verktyg för att studera mekanismer för läkemedelsresistens och testa nästa generations EGFR-hämmare.

T790M-mutationen förändrar den ATP-bindande fickan hos EGFR, vilket minskar effekten av tidigare EGFR-hämmare samtidigt som receptorns signalaktivitet bibehålls. Denna egenskap har drivit fram forskning kring tredje generationens hämmare, såsom osimertinib, som selektivt riktar in sig på T790M-muterad EGFR samtidigt som vildtyp EGFR skonas, vilket minskar off-target-effekter. Studier med NCI-H1975 har bidragit till förståelsen av de strukturella och funktionella effekterna av dessa mutationer på EGFR-medierade signalvägar, inklusive nedströmseffekter på PI3K/AKT- och RAS/RAF/MEK/ERK-vägarna, som är centrala för tumörcellernas proliferation och överlevnad.

Förutom sin roll i forskningen kring läkemedelsresistens används NCI-H1975 i prekliniska utvärderingar av kombinationsbehandlingar som syftar till att övervinna resistens genom att påverka flera olika signalvägar. Dess väl karakteriserade genetiska och molekylära profil, inklusive detaljerade data om kopietalsvariationer och mutationslandskap, har befast dess status som en viktig modell för studier av NSCLC:s biologi och utveckling av behandlingar.

Organism Människan

Tissue Lungan

Disease Adenokarcinom i lungan

Synonyms NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

Egenskaper

Gender Kvinna

Ethnicity Europeiska

Morphology Epitelial

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

NCI-H1975-celler | 305067

Citation NCI-H1975 (Cytion katalognummer 305067)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1511

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio 1:2 till 1:4

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

NCI-H1975-celler | 305067

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NCI-H1975-celler | 305067

**Storage
Conditions**

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.