

## Клітини NCI-H1975 | 305067

## Загальна інформація

## Description

Клітинна лінія NCI-H1975 - це добре відома модель, отримана з недрібноклітинного раку легенів людини (НДРЛ), а саме аденокарциноми. Ця клітинна лінія є особливо важливою завдяки подвійним мутаціям в гені рецептора епідермального фактору росту (EGFR). Вона містить активуючу мутацію L858R в екзоні 21 та мутацію T790M в екзоні 20, яка надає стійкості до інгібіторів тирозинкінази (ITK) першого покоління, таких як гефітініб та ерлотиніб. Ці генетичні характеристики роблять NCI-H1975 цінним інструментом для вивчення механізмів медикаментозної резистентності та тестування інгібіторів EGFR наступного покоління.

Мутація T790M змінює АТФ-зв'язуючу кишеню EGFR, знижуючи ефективність попередніх інгібіторів EGFR, зберігаючи при цьому сигнальну активність рецептора. Ця властивість стимулювала дослідження інгібіторів третього покоління, таких як осимертиніб, які селективно впливають на мутантний EGFR T790M, не впливаючи на EGFR дикого типу, що зменшує нецільові ефекти. Дослідження з використанням NCI-H1975 сприяли розумінню структурного та функціонального впливу цих мутацій на сигнальні шляхи, опосередковані EGFR, включаючи подальший вплив на PI3K/AKT та RAS/RAF/MEK/ERK шляхи, які є ключовими у проліферації та виживанні пухлинних клітин.

На додаток до своєї ролі в дослідженнях лікарської резистентності, NCI-H1975 використовується в доклінічних оцінках комбінованої терапії, спрямованої на подолання резистентності шляхом впливу на кілька шляхів. Його добре охарактеризований генетичний і молекулярний профіль, включаючи детальні дані про варіації кількості копій і мутаційні ландшафти, закріпив за ним статус важливої моделі у вивченні біології НДКРЛ і розробці терапевтичних препаратів.

**Organism** Людина

**Tissue** Легені

**Disease** Аденокарцинома легень

**Synonyms** NCI-H1975, H-1975, NCIH1975

## Характеристики

**Gender** Жінка

**Ethnicity** Європейський

**Morphology** Епітеліальний

**Growth properties** Адепт

## Нормативні дані

## Клітини NCI-H1975 | 305067

**Citation** NCI-H1975 (номер за каталогом Cytion 305067)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1511

## Біомолекулярні дані

## Обробка

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO<sub>3</sub> (номер за каталожним номером 820700a)

**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS

**Dissociation Reagent** Аккутаза

**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Split ratio** від 1:2 до 1:4

**Fluid renewal** 2-3 рази на тиждень

**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

**Клітини NCI-H1975 | 305067****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Ні

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини NCI-H1975 | 305067

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірених ізольованих упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.