

Клетки NCI-H69AR | 305840

Обща информация

Description

NCI-H69AR е мултирезистентно производно на родителската клетъчна линия за дребноклетъчен белодробен карцином (SCLC) NCI-H69. Тя е разработена чрез непрекъсната селекция в нарастващи концентрации на химиотерапевтични агенти, като например доксорубин. В резултат на това NCI-H69AR служи като ключова моделна система за изследване на механизмите на придобита лекарствена резистентност при SCLC. Тази клетъчна линия запазва много от морфологичните и биохимичните характеристики на родителската си линия, но проявява дълбока резистентност към няколко цитотоксични агента, което я прави особено подходяща за изучаване на пътищата на резистентност, медирирани от ефлукса.

Основният механизъм на резистентност при NCI-H69AR включва свръхекспресия на протеина за многолекарствена резистентност P-glycoprotein (P-gp), кодиран от гена MDR1. P-gp функционира като АТФ-зависима ефлуксна помпа, която намалява вътреклетъчното натрупване на лекарства, особено за антрациклини, винка алкалоиди и епиподофилотоксини. Освен това NCI-H69AR показва променена експресия на мембранно-асоциирани протеини, включително анексин II, което може да е свързано с промени в калциевата сигнализация и везикуларния трафик - процеси, свързани с лекарствената резистентност и отговора на клетките на стрес. Тези фенотипни промени превръщат NCI-H69AR в ценен модел за идентифициране на модулатори на лекарствената резистентност и за оценка на ефикасността на агенти, насочени към механизмите на изтичане или заобикалящи изцяло пътищата на резистентност.

NCI-H69AR също така се използва в сравнителни проучвания с родителската линия, за да се очертаят промените в експресията на гени и протеини, профилите на чувствителност към лекарства и отговора към фармакологични инхибитори. Тази сравнителна рамка помага за изясняване на еволюцията на лекарствената резистентност при рака и допринася за разработването на комбинирани терапии, насочени към ресенсибилизиране на резистентните тумори. Линията обикновено се култивира в среда RPMI-1640, допълнена с фетален говежди серум, и се поддържа при стандартни атмосферни условия. Нейната устойчивост и добре характеризирани фенотип на резистентност са ѝ осигурили място в предклиничните изследвания на лекарствената резистентност при рак на белия дроб.

Organism Човек

Tissue Метастатичен

Disease Дребноклетъчен карцином на белия дроб

Metastatic site Плеврален излив

Synonyms NCI-H69 AR, NCI-H69/AR, H69AR, H-69AR

Характеристики

Age 55 години

Gender Мъжки

Клетки NCI-H69AR | 305840

Ethnicity	Кавказки
Morphology	Епителиален
Cell type	Подобни на епителните
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	NCI-H69AR (каталожен номер 305840 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3513

Биомолекуларни данни

Tumorigenic	Да; Да, при голи мишки
Mutational profile	Мутация: Мутация, RB1, проста, p.Glu748Ter (c.2242G>T), хомозиготна (от родителска клетъчна линия). Мутация, TP53, проста, p.Glu171Ter (c.511G>T), хомозиготна (от родителска клетъчна линия).

Работа с

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820700a)
Supplements	Допълнете средата с 20% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично

Клетки NCI-H69AR | 305840**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки NCI-H69AR | 305840

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.