

NCI-H69AR-solut | 305840

Yleisiä tietoja

Description

NCI-H69AR on monilääkkeille vastustuskykyinen johdannainen pienisoluisesta keuhkosyövästä (SCLC) NCI-H69. Se kehitettiin jatkuvalla valikoinnilla kemoterapeuttisten aineiden, kuten doksorubisiinin, lisääntyvillä pitoisuuksilla. Tämän vuoksi NCI-H69AR toimii keskeisenä mallijärjestelmänä SCLC:n hankitun lääkeresistenssin mekanismien tutkimisessa. Tämä solulinja säilyttää monet vanhempiensa morfologiset ja biokemialliset piirteet, mutta sillä on syvä resistenssi useille sytotoksille aineille, mikä tekee siitä erityisen tärkeän efflux-välitteisten resistenssiväylien tutkimisessä.

NCI-H69AR:n ensisijainen resistenssimekanismi liittyy MDR1-geenin koodaaman moniresistenssiproteiinin P-glykoproteiinin (P-gp) yliekspressioon. P-gp toimii ATP-riippuvaisena effluksipumpuna, joka vähentää lääkkeiden kertymistä solunsisäisesti, erityisesti antrasykliinien, vinka-alkaloidien ja epipodofyllotoksiinien osalta. Lisäksi NCI-H69AR:lla on muuttunut kalvoihin liittyvien proteiinien, kuten annexiini II:n, ilmentyminen, mikä voi liittyä muutoksiin kalsiumsignaalien ja vesikkelien kulkeutumisessa - prosesseissa, jotka ovat mukana lääkeresistenssissä ja solun stressivasteessa. Nämä fenotyypiset muutokset tekevät NCI-H69AR:sta arvokkaan mallin lääkeresistenssin modulaattoreiden tunnistamiseksi ja sellaisten aineiden tehokkuuden arvioimiseksi, jotka kohdistuvat efflux-mekanismeihin tai ohittavat resistenssiväylät kokonaan.

NCI-H69AR-mallia on myös käytetty vertailututkimuksissa emolinjaan nähden geenien ja proteiinien ilmentymisen muutosten, lääkeherkkyysofiilien ja farmakologisille inhibiittoreille annettavan vasteen määrittämiseksi. Tämä vertaileva kehys auttaa selvittämään lääkeresistenssin kehittymistä syövässä ja auttaa suunnittelemaan yhdistelmähoitoja, joilla pyritään herkistämään resistentit kasvaimet uudelleen. Linjaa viljellään tyypillisesti RPMI-1640-mediassa, jota on täydennetty naudan sikiöseerumilla, ja sitä ylläpidetään tavanomaisissa ilmasto-olosuhteissa. Sen kestävyys ja hyvin karakterisoitu resistenssifenotyyppi ovat varmistaneet sen aseman keuhkosyövän lääkeresistenssiä koskevassa prekliinisessä tutkimuksessa.

Organism Ihminen

Tissue Metastaattinen

Disease Keuhkojen pienisoluisen karsinoma

Metastatic site Pleuraeffuusio

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

Ominaisuudet

Age 55 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

NCI-H69AR-solut | 305840

Morphology Epiteeli

Cell type Epiteelin kaltainen

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation NCI-H69AR (Cytionin luettelonumero 305840)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3513

Biomolekyyli tiedot

Tumorigenic Kyllä; Kyllä, alastomilla hiirillä

Mutational profile Mutaatio: Mutaatio, RB1, Simple, p.Glu748Ter (c.2242G>T), homotsygootti (kantasolulinjasta). mutaatio, TP53, Simple, p.Glu171Ter (c.511G>T), homotsygootti (kantasolulinjasta).

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 20 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediaana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

NCI-H69AR-solut | 305840

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.**Flask Coating**

Ei mitään

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikais säilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

NCI-H69AR-solut | 305840

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.