Product sheet

NCI-H69AR-solut | 305840

Yleisiä tietoja

Description	NCI-H69AR on monilääkkeille vastustuskykyinen johdannainen pienisoluisesta keuhkosyövästä (SCLC) NCI-H69. Se kehitettiin jatkuvalla valikoinnilla kasvavilla kemoterapeuttisten aineiden, kuten doksorubisiinin, 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 sytotoksisille aineille, mikä tekee siitä erityisen tärkeän efflux-välitteisten resistenssireittien tutkimisessa. NCI-H69AR:n ensisijainen resistenssimekanismi liittyy MDR1-geenin koodaaman monilääkeresistenssiproteiini 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 fenotyyppiset 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, lääkeherkkyysprofiilien 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 pienisoluinen karsinooma
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

Sääntelytiedot

Citation	NCI-H69AR (Cytionin luettelonumero 305840)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3513

Biomolekyylitiedot

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	Kryosäilytysmediana 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 syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella 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 tarttuvia, 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 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

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.