

Cellule NCI-H69AR | 305840

Informazioni generali

Description

NCI-H69AR è un derivato multifarmaco resistente della linea cellulare parentale di carcinoma polmonare a piccole cellule (SCLC) NCI-H69. È stata sviluppata attraverso una selezione continua in concentrazioni crescenti di agenti chemioterapici come la doxorubicina. Di conseguenza, NCI-H69AR è un sistema modello fondamentale per studiare i meccanismi di resistenza acquisita ai farmaci nel SCLC. Questa linea cellulare conserva molte delle caratteristiche morfologiche e biochimiche della linea parentale, ma presenta una profonda resistenza a diversi agenti citotossici, il che la rende particolarmente importante per lo studio delle vie di resistenza mediate dall'efflusso.

Il meccanismo primario di resistenza in NCI-H69AR comporta la sovraespressione della proteina di resistenza multifarmaco P-glicoproteina (P-gp), codificata dal gene MDR1. La P-gp funziona come una pompa di efflusso ATP-dipendente che riduce l'accumulo intracellulare di farmaci, in particolare per le antracicline, gli alcaloidi della vinca e le epipodofillotossine. Inoltre, NCI-H69AR presenta un'espressione alterata di proteine associate alla membrana, tra cui l'annexina II, che potrebbe essere associata a cambiamenti nella segnalazione del calcio e nel traffico vescicolare, processi implicati nella resistenza ai farmaci e nella risposta allo stress cellulare. Queste alterazioni fenotipiche rendono NCI-H69AR un modello prezioso per l'identificazione di modulatori della resistenza ai farmaci e per la valutazione dell'efficacia di agenti che mirano ai meccanismi di efflusso o che aggirano completamente le vie di resistenza.

NCI-H69AR è stato anche utilizzato in studi comparativi con la sua linea parentale per delineare i cambiamenti nell'espressione genica e proteica, i profili di sensibilità ai farmaci e la risposta agli inibitori farmacologici. Questo quadro comparativo aiuta a chiarire l'evoluzione della resistenza ai farmaci nel cancro e contribuisce alla progettazione di terapie combinate volte a risensibilizzare i tumori resistenti. La linea è tipicamente coltivata in terreno RPMI-1640 integrato con siero fetale bovino e mantenuta in condizioni atmosferiche standard. La sua robustezza e il fenotipo di resistenza ben caratterizzato ne hanno assicurato il posto nella ricerca preclinica sulla resistenza ai farmaci nel cancro del polmone.

Organism Umano**Tissue** Metastatico**Disease** Carcinoma polmonare a piccole cellule**Metastatic site** Versamento pleurico**Synonyms** NCI-H69 AR, NCI-H69/AR, H69AR, H-69AR

Caratteristiche

Age 55 anni**Gender** Uomo

Cellule NCI-H69AR | 305840

Ethnicity	Caucasico
------------------	-----------

Morphology	Epiteliale
-------------------	------------

Cell type	Simile all'epitelio
------------------	---------------------

Growth properties	Aderente
--------------------------	----------

Dati normativi

Citation	NCI-H69AR (catalogo Cytion numero 305840)
-----------------	---

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_3513
-----------------------------	-----------

Dati biomolecolari

Tumorigenic	Sì; Sì, in topi nudi
--------------------	----------------------

Mutational profile	Mutazione: PIK3CA, semplice, p.Gly106_Arg108del (c.317_325delGGCAACCGT), eterozigote (da linea cellulare madre).Mutazione, RB1, semplice, p.Glu748Ter (c.2242G>T), omozigote (da linea cellulare madre).Mutazione, TP53, semplice, p.Glu171Ter (c.511G>T), omozigote (da linea cellulare madre).
---------------------------	--

Manipolazione

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO3 (articolo Cytion numero 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 20% di FBS
--------------------	---

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
----------------------	-------------------------------

Cellule NCI-H69AR | 305840

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongellamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NCI-H69AR | 305840

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.