Product sheet

NCI-H69AR šūnas | 305840

Vispārīga informācija

Description	NCI-H69AR ir pret vairākiem medikamentiem rezistents vecākās mazo plaušu karcinomas (SCLC) šūnu līnijas NCI-H69 atvasinājums. Tā tika attīstīta, veicot nepārtrauktu selekciju ar pieaugošu ķīmijterapeitisko līdzekļu, piemēram, doksorubicīna, koncentrāciju. Tāpēc NCI-H69AR kalpo kā galvenā modeļsistēma, lai pētītu SCLC iegūtās rezistences pret zālēm mehānismus. Šī šūnu līnija saglabā daudzas morfoloģiskās un bioķīmiskās īpašības, kas raksturīgas tās vecākajai līnijai, bet tai piemīt dziļa rezistence pret vairākiem citotoksiskiem līdzekļiem, tāpēc tā ir īpaši piemērota, lai pētītu rezistences ceļus, ko izraisa izplūdes gāzu plūsma. Galvenais NCI-H69AR rezistences mehānisms ir saistīts ar multirezistences proteīna P-glikoproteīna (P-gp), ko kodē MDR1 gēns, hiperekspresiju. P-gp darbojas kā no ATP atkarīgs izplūdes sūknis, kas samazina zāļu intracelulāro uzkrāšanos, jo īpaši attiecībā uz antraciklīniem, vinka alkaloīdiem un epipodofilotoksīniem. Turklāt NCI-H69AR uzrāda ar membrānu saistītu olbaltumvielu, tostarp aneksīna II, izmainītu ekspresiju, kas var būt saistīta ar izmaiņām kalcija signalizācijā un vezikulārajā transportā - procesos, kas saistīti ar rezistenci pret zālēm un šūnu reakciju uz stresu. Šīs fenotipiskās izmaiņas padara NCI-H69AR par vērtīgu modeli zāļu rezistences modulatoru identificēšanai un tādu līdzekļu efektivitātes novērtēšanai, kas vērsti uz izplūdes mehānismiem vai vispār apiet rezistences ceļus. NCI-H69AR ir izmantota arī salīdzinošos pētījumos ar tās vecāku līniju, lai noteiktu izmaiņas gēnu un proteīnu ekspresijā, jutības pret zālēm profilus un reakciju uz farmakoloģiskiem inhibitoriem. Šī salīdzinošā sistēma palīdz noskaidrot vēža rezistences pret zālēm attīstību un palīdz izstrādāt kombinētās terapijas, kuru mērķis ir atjaunot rezistentu audzēju jutību. Līniju parasti kultivē RPMI-1640 barotnē, kas papildināta ar fetālo liellopu serumu, un uztur standarta atmosfēras apstākļos. Tās izturība un labi raksturotais rezistences fenotips ir nodrošinājis tai vietu preklīniskajos pētījumos par rezistenci pret zālēm plaušu vēža gadījumā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Metastātisks
Disease	Plaušu sīkšūnu karcinoma
Metastatic site	Pleiras izsvīdums
Synonyms	NCI-H69 AR, NCI-H69/AR, H69AR, H-69AR

Raksturojums

Age	55 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlija

Product sheet

NCI-H69AR šūnas | 305840

Cell type	Epitēlijveida
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	NCI-H69AR (Cytion kataloga numurs 305840)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3513

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Jā; Jā, kailām pelēm
Mutational profile	Mutācija: Mutācija, RB1, vienkārša, p.Glu748Ter (c.2242G>T), homozigotiska (no mātes šūnu līnijas).Mutācija, TP53, vienkārša, p.Glu171Ter (c.511G>T), homozigotiska (no mātes šūnu līnijas).

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 20% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Fluid renewal	2 līdz 3 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

NCI-H69AR šūnas | 305840

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.