

NCI-H69AR-cellen | 305840

Algemene informatie

Description

NCI-H69AR is een multiresistente afgeleide van de oudercellijn NCI-H69 van het kleincellig longcarcinoom (SCLC). Het is ontwikkeld door continue selectie in toenemende concentraties van chemotherapeutische middelen zoals doxorubicine. Als gevolg hiervan dient NCI-H69AR als een belangrijk modelsysteem voor het onderzoeken van mechanismen van verworven geneesmiddelenresistentie in SCLC. Deze cellijn heeft veel van de morfologische en biochemische kenmerken van de ouderlijn, maar vertoont een hoge resistentie tegen verschillende cytotoxische middelen, waardoor deze bijzonder relevant is voor het bestuderen van efflux-gemedieerde resistentiewegen.

Het primaire mechanisme van resistentie in NCI-H69AR is overexpressie van het multidrug resistentie eiwit P-glycoproteïne (P-gp), dat gecodeerd wordt door het MDR1 gen. P-gp functioneert als een ATP-afhankelijke effluxpomp die de intracellulaire ophoping van geneesmiddelen vermindert, met name voor anthracyclines, vinca-alkaloïden en epipodofyllotoxines. Daarnaast vertoont NCI-H69AR een veranderde expressie van membraangebonden eiwitten, waaronder annexine II, wat geassocieerd kan worden met veranderingen in calciumsignaling en vesiculaire transportprocessen die betrokken zijn bij geneesmiddelenresistentie en cellulaire stressrespons. Deze fenotypische veranderingen maken NCI-H69AR tot een waardevol model voor het identificeren van modulatoren van geneesmiddelenresistentie en voor het evalueren van de werkzaamheid van middelen die zich richten op effluxmechanismen of die de resistentiewegen helemaal omzeilen.

NCI-H69AR is ook gebruikt in vergelijkende studies met de ouderlijn om veranderingen in gen- en eiwitexpressie, geneesmiddelgevoeligheidsprofielen en respons op farmacologische remmers te bepalen. Dit vergelijkende kader helpt de evolutie van geneesmiddelenresistentie in kanker te verduidelijken en draagt bij aan het ontwerp van combinatietherapieën gericht op het opnieuw gevoelig maken van resistente tumoren. De lijn wordt gewoonlijk gekweekt in RPMI-1640 medium aangevuld met foetaal runderserum en onderhouden onder standaard atmosferische omstandigheden. De robuustheid en het goed gekarakteriseerde resistentiefenotype hebben ervoor gezorgd dat de lijn een belangrijke rol speelt in preklinisch onderzoek naar resistentie tegen geneesmiddelen in longkanker.

Organism

Mens

Tissue

Uitgezaaid

Disease

Longkleincellig carcinoom

Metastatic site

Pleurale effusie

Synonyms

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

Kenmerken

Age

55 jaar

Gender

Mannelijk

NCI-H69AR-cellen | 305840

Ethnicity	Kaukasisch
------------------	------------

Morphology	Epitheel
-------------------	----------

Cell type	Epitheelachtig
------------------	----------------

Growth properties	Aanhangend
--------------------------	------------

Regelgevende gegevens

Citation	NCI-H69AR (Cytion catalogusnummer 305840)
-----------------	---

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

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

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

Biomoleculaire gegevens

Tumorigenic	Ja; Ja, in naakte muizen
--------------------	--------------------------

Mutational profile	Mutatie: PIK3CA, Eenvoudig, p.Gly106_Arg108del (c.317_325delGGCAACCGT), Heterozygoot (van ouder cellijn). Mutatie, RB1, Eenvoudig, p.Glu748Ter (c.2242G>T), Homozygoot (van ouder cellijn). Mutatie, TP53, Eenvoudig, p.Glu171Ter (c.511G>T), Homozygoot (van ouder cellijn).
---------------------------	---

Omgaan met

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
-----------------------	---

Supplements	Vul het medium aan met 20% FBS
--------------------	--------------------------------

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

Fluid renewal	2 tot 3 keer per week
----------------------	-----------------------

NCI-H69AR-cellen | 305840

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NCI-H69AR-cellen | 305840

**Storage
Conditions**

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.