

NCI-H196 rakud | 300390

Üldine teave

Description

NCI-H196 on väikeserakkuline kopsuvähk (SCLC), mida kasutatakse vähi progresseerumise, kemoteraapia resistentsuse ja rakkude vastuste uurimiseks oksüdatiivsele stressile. NCI-H196-ga tehtud uuringud on näidanud selle tundlikkust pürrolidiiniditiokarbamaadi (PDTC), mis on proooksüdantne aine, tsütotoksilise toime suhtes. PDTC kutsub esile S-faasi rakutsükli peatumise ja vähendab märkimisväärselt NCI-H196 rakkude elujõulisust annusest sõltuvalt. See tsütotoksilisus on tingitud oksüdatiivse stressi indutseerimisest, mida tõendavad suurenenud reaktiivsed hapnikuliigid (ROS) ja muutused oksüdatiivse stressiga seotud geenide ekspressioonis. Antioksidantide, nagu N-atsetüül-L-tsüsteiini (NAC) lisamine võib tõhusalt muuta PDTC poolt indutseeritud tsütotoksilisust, mis kinnitab oksüdatiivse stressi rolli rakusurmas.

Edasised uuringud on näidanud, et PDTC suurendab tsisplatiini, SCLC raviks kasutatava esimese rea kemoteraapia ravimi tsütotoksilisust. Tsisplatiini väikeste annuste kombineerimine PDTC mittetoksiliste kontsentratsioonidega põhjustab NCI-H196 rakkudes sünergilist tsütotoksilisust. Arvatakse, et see kombinatsiooniteraapia on tõhus tänu sellele, et PDTC vähendab ATP7A, vase väljavoolutransporteri, mida seostatakse tsisplatiiniresistentsusega. ATP7A inhibeerimise kaudu võib PDTC suurendada rakusisest vaske ja tundlikustada NCI-H196 rakke tsisplatiini suhtes, mis näitab selle potentsiaali täiendava ravina SCLC puhul.

Organism

Inimene

Tissue

Kopsud

Disease

Kopsu väikerakk-kartsinoom

Metastatic site

Pleuraefusioon

Applications

3D rakukultuur, vähiuuringud

Synonyms

NCI-H196, H-196, NCIH196

Omadused

Age

68 aastat

Gender

Mees

Ethnicity

Euroopa

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

NCI-H196 rakud | 300390

Citation	NCI-H196 (Cytioni katalooginumber 300390)
----------	---

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

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

CellosaurusAccession	CVCL_1509
----------------------	-----------

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
----------------	--

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
-------------	-----------------------------

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

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
--------------	--

Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.
---------------	--

NCI-H196 rakud | 300390

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCI-H196 rakud | 300390

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.