

NCI-H196 sejtek | 300390

Általános információk

Description

Az NCI-H196 egy kissejtes tüdőrák (SCLC) sejtvonala, amelyet a rák progressziójának, a kemoterápiás rezisztenciának és az oxidatív stresszre adott sejtválaszoknak a tanulmányozására használnak. Az NCI-H196-tal végzett kutatások kimutatták, hogy a sejt érzékeny a pirrolidin-ditiokarbamát (PDTC), egy prooxidáns szer citotoxikus hatásaira. A PDTC az S-fázisú sejtciklus leállítását idézi elő, és dóziszfüggő módon jelentősen csökkenti az NCI-H196 sejtek életképességét. Ez a citotoxicitás az oxidatív stressz indukciójának tulajdonítható, amit a megnövekedett reaktív oxigénfajok (ROS) és az oxidatív stresszrel kapcsolatos gének expressziójának változása bizonyít. Az antioxidánsok, mint az N-acetil-L-cisztein (NAC) hozzáadása hatékonyan visszafordíthatja a PDTC által kiváltott citotoxicitást, ami megerősíti az oxidatív stressz szerepét a sejthalálban.

További vizsgálatok kimutatták, hogy a PDTC fokozza a ciszplatin, az SCLC kezelésében alkalmazott első vonalbeli kemoterápiás gyógyszer citotoxicitását. A ciszplatin alacsony dózisainak kombinálása a PDTC nem toxikus koncentrációjával szinergista citotoxicitást eredményez az NCI-H196 sejtekben. Ez a kombinált terápia feltehetően azért hatékony, mert a PDTC lefelé szabályozza az ATP7A-t, egy réz efflux transzportert, amely a ciszplatinrezisztenciával hozható összefüggésbe. Az ATP7A gátlásával a PDTC növelheti az intracelluláris rézet és érzékenyítheti az NCI-H196 sejteket a ciszplatinnal szemben, ami kiemeli az SCLC kiegészítő terápiájában rejlő lehetőségeket.

Organism

Emberi

Tissue

Tüdő

Disease

Tüdő kissejtes karcinóma

Metastatic site

Mellhártya folyadékgyülem

Applications

3D sejt kultúra, rákkutatás

Synonyms

NCI-H196, H-196, NCIH196

Jellemzők

Age

68 év

Gender

Férfi

Ethnicity

Európai

Growth properties

Adherent

NCI-H196 sejtek | 300390

Szabályozási adatok

Citation	NCI-H196 (Cytion katalógusszám: 300390)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1509

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820700a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

NCI-H196 sejtek | 300390

Thawing and
Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation
Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing
Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCI-H196 sejtek | 300390

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.