

NCI-H196 šūnas | 300390

Vispārīga informācija

Description

NCI-H196 ir mazo šūnu plaušu vēža (SCLC) šūnu līnija, ko izmanto, lai pētītu vēža progresēšanas mehānismus, rezistenci pret ķīmijterapiju un šūnu reakciju uz oksidatīvo stresu. Pētījumi ar NCI-H196 ir pierādījuši tās jutību pret prooksidantu prooksidanta pirolidīna ditiokarbamāta (PDTC) citotoksisko iedarbību. PDTC izraisa S-fāzes šūnu cikla apstāšanos un ievērojami samazina NCI-H196 šūnu dzīvotspēju atkarībā no devas. Šī citotoksicitāte ir saistīta ar oksidatīvā stresa indukciju, par ko liecina paaugstināta reaktīvo skābekļa savienojumu (ROS) un ar oksidatīvo stresu saistīto gēnu ekspresijas izmaiņas. Antioksidantu, piemēram, N-acetil-L-cisteīna (NAC), pievienošana var efektīvi mainīt PDTC izraisīto citotoksicitāti, apstiprinot oksidatīvā stresa nozīmi šūnu bojāejas procesā.

Turpmāki pētījumi liecina, ka PDTC pastiprina cisplatīna - pirmās līnijas ķīmijterapijas līdzekļa, ko izmanto SCLC ārstēšanā, - citotoksicitāti. Kombinējot nelielas cisplatīna devas ar netoksisku PDTC koncentrāciju, tiek panākta sinerģiska citotoksicitāte NCI-H196 šūnās. Tiek uzskatīts, ka šī kombinētā terapija ir efektīva, jo PDTC pazemina ATP7A, vara izplūdes transportiera, kas saistīts ar rezistenci pret cisplatīnu, regulāciju. Inhibējot ATP7A, PDTC var palielināt intracelulārā vara daudzumu un jutināt NCI-H196 šūnas pret cisplatīnu, tādējādi uzsverot PDTC kā papildu terapijas potenciālu SCLC ārstēšanā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Plaušas

Disease

Plaušu sīkšūnu karcinoma

Metastatic site

Pleiras izsvīdums

Applications

3D šūnu kultūras, Vēža pētniecība

Synonyms

NCI-H196, H-196, NCIH196

Raksturojums

Age

68 gadi

Gender

Vīrieši

Ethnicity

Eiropas

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

NCI-H196 šūnas | 300390

Citation NCI-H196 (Cytion kataloga numurs 300390)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1509

Biomolekulārie dati

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 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

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-H196 šūnas | 300390

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 pārnēsiet 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 pārnēsāt 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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing
Procedure

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.

NCI-H196 šūnas | 300390

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 slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.