

Клетки NCH690 | 300120

Обща информация

Description

Клетъчната линия NCH640 е клетъчен модел, подобен на стволовите клетки на глиобластома, който се използва в научните изследвания за изследване на механизмите на туморната резистентност, клетъчното оцеляване при стрес и терапевтичните реакции. Глиобластомът, една от най-агресивните форми на мозъчни тумори, е труден за лечение поради своята устойчивост към терапия и адаптация към враждебна микросреда. NCH640 се култивира в специализирани среди като Neurobasal A с добавки като B27, а растежът му се подпомага от основни растежни фактори като EGF и FGF-2. Той често се използва заедно с други модели на глиомни стволови клетки, като NCH690 и NCH644, за изследване на тези биологични явления.

Изследванията на NCH640 са силно фокусирани върху механизмите на резистентност, особено в хипоксични условия. Глиомни клетки като NCH640 показват значителна зависимост от метаболитни адаптации, включително променена регулация на реактивните кислородни видове (ROS). Проучванията показват, че насочването към пътища като интегрирания отговор на стреса (ISR) в NCH640 и свързаните с него клетъчни линии може да подобри чувствителността им към терапии като темозоломид, който обикновено се използва при лечението на глиобластом. Тези открития са важни за разработването на нови стратегии за преодоляване на присъщата резистентност на глиомоподобните стволови клетки към стандартните терапевтични интервенции.

Organism Човек

Tissue Мозък

Disease Глиобластом

Характеристики

Age 78 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Growth properties Сфероидна култура, частично сраснала

Регулаторни данни

Citation NCH690 (каталожен номер 300120 на Cytion)

Biosafety level 1

Клетки NCH690 | 300120

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x915

Биомолекулярни данни

Tumorigenic Да

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS, 5 mg/L хепарин, 20 ng/mL bFGF, 20 microgram/L EGF, 5 mg/L инсулин, 100 mg/L трансферин, 5,2 microgram/L Na-selenit, 6,3 microgram/L прогестерон, 161,1 microgram/L путресцин, 50 mg/L хидрокортизон**Subculturing** За субкултивиране на сфероидните култури започнете с механично разделяне на сфероидите чрез пипетиране нагоре-надолу 5 до 10 пъти с помощта на пипета Eppendorf с 1000 µl филтърни накрайници. След това центрофугирайте сместа при 300 g в продължение на 5 минути при стайна температура, за да се изсипят клетките. Изхвърлете супернатантата и ресуспендирайте клетъчната пелета в свежа хранителна среда. Накрая прехвърлете ресуспендираните клетки в нови съдове за култивиране, за да стимулирате по-нататъшното формиране на сфероиди. Този подход осигурява ефективно разпадане на сфероидите и ги подготвя за продължаване на растежа в нова среда**Seeding density** 1 x 10⁵ клетки/мл**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Post-Thaw Recovery** След размразяването оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване за поне 24-48 часа.**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме 50% базова среда + 40% FBS + 10% DMSO или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCH690 | 300120

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCH690 | 300120

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

A*: '03:01:01, '68:01:02
B*: '35:01:01, '47:01:01
C*: '04:01:01, '06:02:01
DRB1*: '07:01:01, '16:02:01
DQA1*: '01:02:02, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:02:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01