

Клетки NCH644 | 300124

Обща информация

Description

Клетъчната линия NCH644 е клетъчна линия, подобна на стволовите клетки на глиобластома, получена от тумори на пациенти, при които липсва амплификация на EGFR, което я прави ценен модел за изучаване на биологията на глиобластома, особено в контекста на сигнализацията на растежните фактори и свойствата на стволовите клетки. Проучванията показват, че в клетките NCH644 основният фибробластен растежен фактор (bFGF) играе значителна роля в подпомагането на растежа и поддържането на характеристиките на стволовите клетки, докато епидермалният растежен фактор (EGF) не проявява подобни ефекти. Клетките NCH644 реагират на bFGF, като увеличават експресията на маркери за стволови клетки като CD133 и nestin, а също така проявяват повишена устойчивост към апоптоза. Тази устойчивост, съчетана с липсата на амплификация на EGFR, прави NCH644 подходящ модел за разбиране на поведението на глиобластомните стволови клетки, особено при различни условия на растежните фактори.

Друга забележителна особеност на NCH644 е по-бавната му пролиферация в сравнение с други глиобластомни стволови клетъчни линии, като например NCH421k. При стимулиране с bFGF обаче клетките NCH644 показват повишена експресия на EGFR, дори при липса на амплификация на EGFR, което подчертава взаимодействието между рецепторите за фибробластни растежни фактори (FGFR) и сигналните пътища на EGFR. Освен това bFGF играе роля за увеличаване на клоногенността и мултипотентността на клетките NCH644, което допълнително подкрепя схващането, че bFGF е от решаващо значение за поддържане на глиомоподобните свойства на тези клетки.

Установено е също, че клетките NCH644 притежават субпопулации с бавен цикъл, които запазват маркировката и проявяват повишена туморогенност и устойчивост към лечения като облъчване и темозоломид. Тази субпопулация от клетки, които задържат етикета, в рамките на линията NCH644 е силно туморогенна и може да образува тумори в имунокомпрометирани мишки дори при малък брой клетки. Тези характеристики, съчетани с устойчивостта им към стандартни лечения, превръщат NCH644 в изключително важен инструмент за изследване на терапевтични стратегии, насочени към стволовите клетки на глиобластома.

Organism Човек

Tissue Мозък

Disease Глиобластом

Характеристики

Age 66 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Клетки NCH644 | 300124

Growth properties Сфероидна култура

Регулаторни данни

Citation NCH644 (каталожен номер 300124 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x914

Биомолекулярни данни

Antigen expression Силно CD133 позитивен

Tumorigenic Да

Ploidy status Анеуплоидни

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 2×10^5 клетки/мл

Клетки NCH644 | 300124**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.**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°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°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 $300 \times g$ 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°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Клетки NCH644 | 300124

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°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

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

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