

Buňky NCH690 | 300120

Obecné informace

Description

Buněčná linie NCH640 je model kmenových buněk glioblastomu, který se používá ve výzkumu ke zkoumání mechanismů nádorové rezistence, přežívání buněk při zátěži a terapeutických reakcí. Glioblastom, jedna z nejagresivnějších forem mozkových nádorů, je obtížně léčitelný kvůli své rezistenci vůči terapii a adaptaci na nepřátelské mikroprostředí. NCH640 se kultivuje ve specializovaných médiích, jako je Neurobasal A s doplňky, jako je B27, a jeho růst je podporován základními růstovými faktory, jako jsou EGF a FGF-2. Ke zkoumání těchto biologických jevů se často používá spolu s dalšími modely gliomových kmenových buněk, jako jsou NCH690 a NCH644.

Výzkum NCH640 se výrazně zaměřuje na mechanismy jeho rezistence, zejména za hypoxických podmínek. Gliomové buňky jako NCH640 vykazují značnou závislost na metabolických adaptacích, včetně změněné regulace reaktivních forem kyslíku (ROS). Studie prokázaly, že cílené ovlivnění drah, jako je integrovaná stresová reakce (ISR), u buněčných linií NCH640 a příbuzných buněk může zlepšit jejich citlivost na léčbu, jako je temozolomid, který se běžně používá při léčbě glioblastomu. Tato zjištění jsou důležitá pro vypracování nových strategií k překonání přirozené rezistence gliomových kmenových buněk vůči standardním terapeutickým zásahům.

Organism Člověk

Tissue Mozek

Disease Glioblastom

Charakteristika

Age 78 let

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Growth properties Sféroïdní kultura, částečně adherentní

Regulační údaje

Citation NCH690 (katalogové číslo Cytion 300120)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Buňky NCH690 | 300120

CellosaurusAccession CVCL_x915**Depositor** C. Herold-Mende**Biomolekulární data****Tumorigenic** Ano**Zpracování****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, 5 mg/l heparinu, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramů/l EGF, 5 mg/l inzulínu, 100 mg/l transferinu, 5,2 mikrogramů/l Na-selenitu, 6,3 mikrogramů/l progesteronu, 161,1 mikrogramů/l putrescinu, 50 mg/l hydrokortisonu**Subculturing** Při subkultivaci sféroidních kultur začněte mechanickou disociací sféroidů pipetováním 5 až 10krát nahoru a dolů pomocí pipety Eppendorf s filtračními špičkami o objemu 1000 µl. Poté směs odstředíte při 300 g po dobu 5 minut při pokojové teplotě, aby se buňky peletovaly. Supernatant zlikvidujte a buněčnou peletu znovu rozpustíte v čerstvém kultivačním médiu. Nakonec přeneste resuspendované buňky do nových kultivačních nádob, abyste podpořili další tvorbu sféroidů. Tento postup zajišťuje účinné rozdělení sféroidů a připravuje je na další růst v novém prostředí**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:2 až 1:5 podle rychlosti růstu**Seeding density** 1×10^5 buněk/ml**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení nechte buňky alespoň 24 až 48 hodin zotavovat z procesu zmrazování.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

Buňky NCH690 | 300120**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCH690 | 300120

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

CSF1PO: 10,11
D13S317: 10,13
D16S539: 9,12
D5S818: 11,12
D7S820: 8,9
TH01: 9,9.3
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 14,17
D21S11: 29,32
D18S51: 17
Penta E: 12,20
Penta D: 10,12
D8S1179: 11,14
FGA: 22,24

Alely HLA

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