

Buňky NCH644 | 300124

Obecné informace

Description

Buněčná linie NCH644 je glioblastomu podobná kmenová buněčná linie odvozená z nádorů pacientů, u nichž chybí amplifikace EGFR, což z ní činí cenný model pro studium biologie glioblastomu, zejména v kontextu signalizace růstových faktorů a vlastností kmenových buněk. Studie prokázaly, že v buňkách NCH644 hraje základní fibroblastový růstový faktor (bFGF) významnou roli při zprostředkování růstu a udržování vlastností kmenových buněk, zatímco epidermální růstový faktor (EGF) podobné účinky nevykazuje. Buňky NCH644 reagují na bFGF zvýšením exprese markerů kmenových buněk, jako jsou CD133 a nestin, a vykazují také zvýšenou odolnost vůči apoptóze. Tato odolnost spolu s absencí amplifikace EGFR činí z NCH644 vhodný model pro pochopení chování kmenových buněk glioblastomu, zejména za různých podmínek působení růstových faktorů.

Dalším pozoruhodným rysem NCH644 je pomalejší proliferace ve srovnání s jinými glioblastomovými kmenovými buněčnými liniemi, jako je NCH421k. Při stimulaci bFGF však buňky NCH644 vykazují zvýšenou expresi EGFR, a to i v případě, že nedošlo k amplifikaci EGFR, což poukazuje na interakci mezi receptory fibroblastového růstového faktoru (FGFR) a signálními cestami EGFR. Navíc bFGF hraje roli při zvyšování klonogenity a multipotence buněk NCH644, což dále podporuje domněnku, že bFGF je klíčový pro udržení kmenových vlastností těchto buněk podobných gliomu.

Bylo také prokázáno, že buňky NCH644 obsahují subpopulace s pomalým cyklem, které vykazují zvýšenou nádorovou aktivitu a odolnost vůči léčbě, jako je ozařování a temozolomid. Tato subpopulace buněk uchovávajících značku v rámci linie NCH644 je vysoce tumorigenní a je schopna vytvářet nádory u imunokompromitovaných myší i při malém počtu buněk. Tyto vlastnosti spolu s jejich odolností vůči standardní léčbě činí z NCH644 kritický nástroj pro zkoumání terapeutických strategií zaměřených na kmenové buňky glioblastomu.

Organism Člověk

Tissue Mozek

Disease Glioblastom

Charakteristika

Age 66 let

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Growth properties Sféroidní kultura

Regulační údaje

Buňky NCH644 | 300124

Citation	NCH644 (katalogové číslo Cytion 300124)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x914
Depositor	C. Herold-Mende

Biomolekulární data

Antigen expression	Vysoce CD133 pozitivní
Tumorigenic	Ano
Ploidy status	Aneuploidní

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 NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium 10% FBS, 5 mg/l heparinu, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramů/l EGF, 5 mg/l inzulinu, 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
Seeding density	2 x 10 ⁵ buněk/ml
Fluid renewal	2 až 3krát týdně

Buňky NCH644 | 300124

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, 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 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Buňky NCH644 | 300124

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.

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: 12
D13S317: 10,13
D16S539: 12,13
D5S818: 9,10
D7S820: 12,13
TH01: 6,7
TPOX: 8,11
vWA: 15,19
PEZ6: B-LCL-CDG4