

Cellule NCH644 | 300124

Informazioni generali

Description

La linea cellulare NCH644 è una linea cellulare simile al glioblastoma, derivata da tumori di pazienti privi di amplificazione dell'EGFR, che la rende un modello prezioso per lo studio della biologia del glioblastoma, soprattutto nel contesto della segnalazione dei fattori di crescita e delle proprietà delle cellule staminali. Gli studi hanno dimostrato che nelle cellule NCH644 il fattore di crescita dei fibroblasti di base (bFGF) svolge un ruolo significativo nel mediare la crescita e mantenere le caratteristiche delle cellule staminali, mentre il fattore di crescita epidermico (EGF) non mostra effetti simili. Le cellule NCH644 rispondono al bFGF aumentando l'espressione dei marcatori delle cellule staminali, come CD133 e nestina, e mostrano anche una maggiore resistenza all'apoptosi. Questa resistenza, unita alla mancanza di amplificazione dell'EGFR, rende le NCH644 un modello adatto a comprendere il comportamento delle cellule staminali del glioblastoma, in particolare in condizioni di fattori di crescita diversi.

Un'altra caratteristica degna di nota di NCH644 è il suo tasso di proliferazione più lento rispetto ad altre linee cellulari di glioblastoma simil-staminali, come NCH421k. Tuttavia, quando stimolate da bFGF, le cellule NCH644 mostrano un'aumentata espressione di EGFR, anche in assenza di amplificazione di EGFR, il che evidenzia l'interazione tra i recettori del fattore di crescita dei fibroblasti (FGFR) e le vie di segnalazione di EGFR. Inoltre, bFGF svolge un ruolo nell'aumentare la clonogenicità e la multipotenza delle cellule NCH644, a ulteriore sostegno dell'idea che bFGF sia cruciale per mantenere le proprietà glioma-staminali di queste cellule.

È stato inoltre dimostrato che le cellule NCH644 ospitano sottopopolazioni che mantengono l'etichetta, a ciclo lento, che mostrano una maggiore tumorigenicità e resistenza a trattamenti come l'irradiazione e la temozolomide. Questa sottopopolazione di cellule che mantengono l'etichetta all'interno della linea NCH644 è altamente tumorigenica, in grado di formare tumori in topi immunocompromessi anche con un numero ridotto di cellule. Queste caratteristiche, unite alla resistenza ai trattamenti standard, rendono le NCH644 uno strumento fondamentale per lo studio di strategie terapeutiche mirate alle cellule staminali del glioblastoma.

Organism Umano

Tissue Cervello

Disease Glioblastoma

Caratteristiche

Age 66 anni

Gender Donna

Ethnicity Caucasico

Growth properties Coltura di sferoidi

Cellule NCH644 | 300124

Dati normativi

Citation	NCH644 (numero di catalogo Cytion 300124)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x914
Depositor	C. Herold-Mende

Dati biomolecolari

Antigen expression	Altamente positivo al CD133
Tumorigenic	Sì
Ploidy status	Aneuploide

Manipolazione

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 5 mg/L di eparina, 20 ng/mL di bFGF, 20 microgrammi/L di EGF, 5 mg/L di insulina, 100 mg/L di transferrina, 5,2 microgrammi/L di Na-selenit, 6,3 microgrammi/L di progesterone, 161,1 microgrammi/L di putrescina, 50 mg/L di idrocortisone
Subculturing	Per la subcoltura delle colture di sferoidi, iniziare a dissociare meccanicamente gli sferoidi pipettando su e giù da 5 a 10 volte utilizzando una pipetta Eppendorf con punte filtranti da 1000 µl. Successivamente, centrifugare la miscela a 300g per 5 minuti a temperatura ambiente per pellettizzare le cellule. Scartare il surnatante e risospesare il pellet di cellule in terreno di coltura fresco. Infine, trasferire le cellule risospese in nuovi recipienti di coltura per promuovere l'ulteriore formazione di sferoidi. Questo approccio assicura un'efficiente disgregazione degli sferoidi e li prepara per una crescita continua in un nuovo ambiente
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:5
Seeding density	2 x 10 ⁵ cellule/ml

Cellule NCH644 | 300124

Fluid renewal da 2 a 3 volte alla settimana

Post-Thaw Recovery Dopo lo scongelamento, lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento per almeno 24-48 ore.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo 50% di terreno basale + 40% di FBS + 10% di DMSO, o CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress criodotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Cellule NCH644 | 300124

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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