

NCH690 ląstelės | 300120

Bendra informacija

Description

NCH640 ląstelių linija yra į glioblastomą panašių kamieninių ląstelių modelis, naudojamas moksliniuose tyrimuose siekiant ištirti naviko atsparumo mechanizmus, ląstelių išgyvenamumą streso sąlygomis ir atsaką į gydymą. Glioblastomą, vieną agresyviausių smegenų navikų formų, sunku gydyti dėl jos atsparumo terapijai ir prisitaikymo prie priešiškos mikroaplinkos. NCH640 auginama specializuotoje terpėje, pavyzdžiui, Neurobasal A su tokiais priedais kaip B27, o jos augimą palaiko tokie svarbūs augimo veiksniai kaip EGF ir FGF-2. Jis dažnai naudojamas kartu su kitais gliomos kamieninių ląstelių modeliais, tokiais kaip NCH690 ir NCH644, šiems biologiniams reiškiniams tirti.

Atliekant NCH640 tyrimus daug dėmesio skiriama jos atsparumo mechanizmams, ypač hipoksinėmis sąlygomis. Gliomos ląstelės, tokios kaip NCH640, pasižymi didele priklausomybe nuo metabolinių adaptacijų, įskaitant pakitusį reaktyvių deguonies rūšių (ROS) reguliavimą. Tyrimai parodė, kad NCH640 ir giminingų ląstelių linijų reagavimo į stresą (angl. integrated stress response, ISR) kelius nukreipiant į tokius kelius kaip temozolomidas, kuris paprastai naudojamas glioblastomai gydyti, galima padidinti jų jautrumą tokiems gydymo būdams kaip temozolomidas. Šios išvados yra svarbios kuriant naujas strategijas, kaip įveikti į gliomą panašių kamieninių ląstelių atsparumą standartinėms terapinėms intervencijoms.

Organism Žmogus

Tissue Smegenys

Disease Glioblastoma

Charakteristikos

Age 78 metai

Gender Moteris

Ethnicity Kaukazių

Growth properties Sferoidinė kultūra, iš dalies prigludusi

Reguliavimo duomenys

Citation NCH690 (Cytion katalogo numeris 300120)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCH690 ląstelės | 300120

CellosaurusAccession CVCL_x915

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic Taip

Tvarkymas

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, 5 mg/l heparino, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramų/l EGF, 5 mg/l insulino, 100 mg/l transferino, 5,2 mikrogramo/l Na-selenito, 6,3 mikrogramo/l progesterono, 161,1 mikrogramo/l putrescino, 50 mg/l hidrokortinono**Subculturing** Sferoidines kultūras subkultūruoti pradėkite mechaniškai išskirdami sferoidus pipete 5-10 kartų aukštyn ir žemyn, naudodami "Eppendorf" pipetę su 1000 µl filtro antgaliais. Po to 5 minutes kambario temperatūroje centrifuguokite mišinį 300 g sūkių dažniu, kad ląstelės būtų išsklaidytos. Išmeskite supernatantą, o ląstelių granules vėl suberkite į šviežią terpę. Galiausiai resuspenduotas ląsteles perkelkite į naujus kultūros indus, kad būtų skatinamas tolesnis sferoidų formavimasis. Šis metodas užtikrina veiksmingą sferoidų suskaidymą ir paruošia juos tolesniam augimui naujoje aplinkoje**Seeding density** 1×10^5 ląstelių/ml**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Po atšildymo leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bent 24-48 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NCH690 ląstelės | 300120

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NCH690 ląstelės | 300120

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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