

## NCH644 ląstelės | 300124

## Bendra informacija

## Description

NCH644 ląstelių linija yra į glioblastomą panaši kamieninių ląstelių linija, gauta iš pacientų navikų, kuriuose nėra EGFR amplifikacijos, todėl ji yra vertingas modelis glioblastomos biologijai tirti, ypač atsižvelgiant į augimo veiksnių signalus ir kamieninių ląstelių savybes. Tyrimai parodė, kad NCH644 ląstelėse pagrindinis fibroblastų augimo veiksnys (bFGF) atlieka svarbų vaidmenį tarpininkaujant augimui ir išlaikant kamieninių ląstelių savybes, o epidermio augimo veiksnys (EGF) panašaus poveikio neturi. NCH644 ląstelės reaguoja į bFGF, padidindamos kamieninių ląstelių žymenų, tokių kaip CD133 ir nestinas, raišką, be to, jos pasižymi didesniu atsparumu apoptozei. Šis atsparumas kartu su EGFR amplifikacijos nebuvimu daro NCH644 tinkamu modeliu į glioblastomą panašių kamieninių ląstelių elgsenai suprasti, ypač esant skirtingoms augimo veiksnių sąlygoms.

Kitas svarbus NCH644 bruožas - lėtesnis proliferacijos greitis, palyginti su kitomis į glioblastomą panašiomis kamieninėmis ląstelių linijomis, pavyzdžiui, NCH421k. Tačiau stimuliuojamos bFGF, NCH644 ląstelės pasižymi padidėjusia EGFR raiška, net ir nesant EGFR amplifikacijos, o tai pabrėžia fibroblastų augimo faktoriaus receptorių (FGFR) ir EGFR signalinių kelių sąveiką. Be to, bFGF vaidina svarbų vaidmenį didinant NCH644 ląstelių klonogeniškumą ir multipotentiškumą, o tai dar labiau patvirtina mintį, kad bFGF yra labai svarbus šių ląstelių kamieninėms gliomos savybėms palaikyti.

Taip pat nustatyta, kad NCH644 ląstelės turi žymes išlaikančių, lėtai cirkuliuojančių subpopuliacijų, kurios pasižymi didesniu naviko giminingumu ir atsparumu tokiems gydymo būdams kaip švitinimas ir temozolomidas. Ši NCH644 linijos ląstelių subpopuliacija yra labai navikogeniška ir gali formuoti navikus imunokompromituotose pelėse net ir esant mažam ląstelių skaičiui. Dėl šių savybių ir atsparumo standartiniam gydymui NCH644 linija yra labai svarbi priemonė tiriant gydymo strategijas, skirtas glioblastomos kamieninėms ląstelėms.

<b>Organism</b>	Žmogus
<b>Tissue</b>	Smegenys
<b>Disease</b>	Glioblastoma

## Charakteristikos

<b>Age</b>	66 metai
<b>Gender</b>	Moteris
<b>Ethnicity</b>	Kaukazičių
<b>Growth properties</b>	Sferoidų kultūra

## Reguliavimo duomenys

## NCH644 ląstelės | 300124

**Citation** NCH644 (Cytion katalogo numeris 300124)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_x914

**Biomolekuliniai duomenys**

**Antigen expression** Labai teigiamas CD133

**Tumorigenic** Taip

**Ploidy status** Aneuploidinis

**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 NaHCO<sub>3</sub> (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 hidrokortinsono

**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 sukčių 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**  $2 \times 10^5$  ląstelių/ml

**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę

**Post-Thaw Recovery** Po atšildymo leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bent 24-48 valandas.

## NCH644 ląstelės | 300124

### 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.

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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 perkelkite 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## NCH644 ląstelės | 300124

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug  $-150$ - $196^{\circ}\text{C}$  temperatūroje. Laikymas  $-80^{\circ}\text{C}$  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.