

NCH690 šūnas | 300120

Vispārīga informācija

Description

NCH640 šūnu līnija ir glioblastomas cilmes šūnu modelis, ko izmanto pētījumos, lai izpētītu audzēja rezistences mehānismus, šūnu izdzīvošanu stresa apstākļos un terapeitisko reakciju. Glioblastomu, kas ir viena no agresīvākajām smadzeņu audzēju formām, ir grūti ārstēt, jo tā ir rezistenta pret terapiju un pielāgojas naidīgai mikrovides videi. NCH640 kultivē specializētā barotnē, piemēram, Neurobasal A ar tādām piedevām kā B27, un tās augšanu veicina tādi būtiski augšanas faktori kā EGF un FGF-2. To bieži izmanto kopā ar citiem gliomas cilmes šūnu modeļiem, piemēram, NCH690 un NCH644, lai pētītu šīs bioloģiskās parādības.

NCH640 pētījumos liela uzmanība tiek pievērsta tās rezistences mehānismiem, jo īpaši hipoksiskos apstākļos. Gliomas šūnām, piemēram, NCH640, ir raksturīga ievērojama atkarība no metaboliskajām adaptācijām, tostarp no izmainītas reaktīvo skābekļa sugu (ROS) regulācijas. Pētījumi ir pierādījuši, ka, mērķtiecīgi iedarbojoties uz tādām ceļiem kā integrētā stresa reakcija (ISR) NCH640 un radniecīgās šūnu līnijās, var uzlabot to jutību pret tādām terapijām kā temozolomīds, ko parasti izmanto glioblastomas ārstēšanā. Šie atklājumi ir svarīgi, lai izstrādātu jaunas stratēģijas, kas ļautu pārvarēt gliomas cilmes šūnu raksturīgo rezistenci pret standarta terapeitiskajām intervencēm.

Organism

Cilvēks

Tissue

Smadzenes

Disease

Glioblastoma

Raksturojums

Age

78 gadi

Gender

Sievietes

Ethnicity

Kaukāzietis

Growth properties

Daļēji adhēzijas sferoīdu kultūra

Normatīvie dati

Citation

NCH690 (Cytion kataloga numurs 300120)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

NCH690 šūnas | 300120

CellosaurusAccession CVCL_x915

Biomolekulārie dati

Tumorigenic Jā

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS, 5 mg/l heparīna, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramu/l EGF, 5 mg/l insulīna, 100 mg/l transferīna, 5,2 mikrogramu/l Na-selenīta, 6,3 mikrogramu/l progesterona, 161,1 mikrogramu/l putrescīna, 50 mg/l hidrokortīnsona**Subculturing** Sferoīdu kultūru subkultivēšanu sāciet, mehāniski sadalot sferoīdus ar pipetēm uz augšu un uz leju 5 līdz 10 reizes, izmantojot Eppendorf pipeti ar 1000 µl filtrējošiem uzgaļiem. Pēc tam istabas temperatūrā 5 minūtes centrifugē maisījumu ar 300 g, lai granulētu šūnas. Izmetiet supernatantu un atkārtoti suspendējiet šūnu pelīti svaigā barotnē. Visbeidzot pārvietot resuspendētās šūnas jaunos barotnēs, lai veicinātu sferoīdu veidošanos. Šāda pieeja nodrošina efektīvu sferoīdu sadalīšanos un sagatavo tās turpmākai augšanai jaunā vidē**Seeding density** 1×10^5 šūnas/ml**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa vismaz 24-48 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

NCH690 šūnas | 300120

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCH690 šūnas | 300120

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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