

NCH644 šūnas | 300124

Vispārīga informācija

Description

NCH644 šūnu līnija ir glioblastomas cilmes šūnu līnija, kas iegūta no pacientu audzējiem, kuros nav EGFR amplifikācijas, tāpēc tā ir vērtīgs modelis glioblastomas bioloģijas pētījumiem, īpaši saistībā ar augšanas faktoru signalizāciju un cilmes šūnu īpašībām. Pētījumi liecina, ka NCH644 šūnās pamata fibroblastu augšanas faktoram (bFGF) ir nozīmīga loma augšanā un cilmes šūnu īpašību uzturēšanā, savukārt epidermālajam augšanas faktoram (EGF) nav līdzīgas ietekmes. NCH644 šūnas reaģē uz bFGF, palielinot cilmes šūnu marķieru, piemēram, CD133 un nestīna, ekspresiju, un tām ir arī paaugstināta izturība pret apoptozi. Šī rezistence kopā ar EGFR amplifikācijas trūkumu padara NCH644 par piemērotu modeli, lai izprastu glioblastomas cilmes šūnu uzvedību, jo īpaši dažādos augšanas faktoru apstākļos.

Vēl viena NCH644 raksturīga iezīme ir lēnāks proliferācijas ātrums salīdzinājumā ar citām glioblastomas cilmes šūnu līnijām, piemēram, NCH421k. Tomēr, stimulējot ar bFGF, NCH644 šūnas uzrāda paaugstinātu EGFR ekspresiju pat tad, ja EGFR amplifikācijas nav, kas norāda uz fibroblastu augšanas faktoru receptoru (FGFR) un EGFR signalizācijas ceļu mijiedarbību. Turklāt bFGF ir nozīme NCH644 šūnu klonogenitātes un multipotences palielināšanā, kas vēl vairāk apstiprina pieņēmumu, ka bFGF ir izšķiroša nozīme šo šūnu gliomas cilmes īpašību saglabāšanā.

Ir arī pierādīts, ka NCH644 šūnās ir marķējumu saglabājušas, lēni cirkulējošas subpopulācijas, kurām piemīt paaugstināta audzēja aktivitāte un izturība pret tādiem ārstēšanas veidiem kā apstarošana un temozolomīds. Šī NCH644 līnijas marķējumu saglabājušo šūnu subpopulācija ir ļoti tumorigēna, spēj veidot audzējus imūnkompromitētām pelēm pat ar nelielu šūnu skaitu. Šīs īpašības kopā ar NCH644 līnijas rezistenci pret standarta ārstēšanu padara NCH644 līniju par kritiski svarīgu instrumentu, lai pētītu terapeitiskās stratēģijas, kas vērstas pret glioblastomas cilmes šūnām.

Organism	Cilvēks
Tissue	Smadzenes
Disease	Glioblastoma

Raksturojums

Age	66 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Growth properties	Sferoīdu kultūra

Normatīvie dati

NCH644 šūnas | 300124

Citation NCH644 (Cytion kataloga numurs 300124)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x914

Biomolekulārie dati

Antigen expression Augsti CD133 pozitīvs

Tumorigenic Jā

Ploidy status Aneuploīds

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 2×10^5 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.

NCH644 šūnas | 300124

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

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

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.

NCH644 šūnas | 300124

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.