

Komórki NCH690 | 300120

Informacje ogólne

Description

Linia komórkowa NCH640 to model komórek macierzystych glejaka wykorzystywany w badaniach nad mechanizmami oporności nowotworów, przeżywalności komórek w warunkach stresu i odpowiedzi terapeutycznych. Glejak, jedna z najbardziej agresywnych form nowotworów mózgu, jest trudny do leczenia ze względu na swoją oporność na terapię i adaptację do wrogiego mikrośrodowiska. NCH640 jest hodowany w specjalistycznych pożywkach, takich jak Neurobasal A z dodatkami, takimi jak B27, a jego wzrost jest wspierany przez niezbędne czynniki wzrostu, takie jak EGF i FGF-2. Jest on często wykorzystywany wraz z innymi modelami komórek macierzystych glejaka, takimi jak NCH690 i NCH644, do badania tych zjawisk biologicznych.

Badania nad NCH640 koncentrują się w dużej mierze na jego mechanizmach oporności, szczególnie w warunkach niedotlenienia. Komórki glejaka, takie jak NCH640, wykazują znaczną zależność od adaptacji metabolicznych, w tym zmienionej regulacji reaktywnych form tlenu (ROS). Badania wykazały, że ukierunkowanie szlaków, takich jak zintegrowana odpowiedź na stres (ISR) w NCH640 i pokrewnych liniach komórkowych, może poprawić ich wrażliwość na terapię, takie jak temozolomid, który jest powszechnie stosowany w leczeniu glejaka. Odkrycia te są ważne dla opracowania nowych strategii przezwycięzania wrodzonej oporności komórek macierzystych glejaka na standardowe interwencje terapeutyczne.

Organism Człowiek

Tissue Mózg

Disease Glejak wielopostaciowy

Charakterystyka

Age 78 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Growth properties Hodowla sferoidalna, częściowo przylegająca

Dane regulacyjne

Citation NCH690 (numer katalogowy Cytion 300120)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Komórki NCH690 | 300120**CellosaurusAccession** CVCL_x915**Depositor** C. Herold-Mende**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Tak**Obsługa****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzpełnić pożywkę 10% FBS, 5 mg/L Heparyny, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L Insuliny, 100 mg/L Transferyny, 5,2 mikrogram/L Na-selenitu, 6,3 mikrogram/L Progesteronu, 161,1 mikrogram/L Putrescyny, 50 mg/L Hydrokortyzonu**Subculturing** W przypadku subkulturowania kultur sferoidalnych, należy rozpocząć od mechanicznej dysocjacji sferoidów poprzez pipetowanie w górę i w dół od 5 do 10 razy przy użyciu pipety Eppendorf z końcówkami filtrującymi 1000 µl. Następnie odwirować mieszaninę z prędkością 300 g przez 5 minut w temperaturze pokojowej w celu osuszenia komórek. Odrzucić supernatant i ponownie zawiesić osad komórek w świeżym podłożu hodowlanym. Na koniec przenieś ponownie zawieszony komórek do nowych naczyń hodowlanych, aby promować dalsze tworzenie sferoidów. Takie podejście zapewnia skuteczny rozpad sferoid i przygotowuje je do dalszego wzrostu w nowym środowisku**Split ratio** Stosunek 1:2 do 1:5 jest zalecany w zależności od tempa wzrostu**Seeding density** 1×10^5 komórek/ml**Fluid renewal** 2 do 3 razy w tygodniu**Post-Thaw Recovery** Po rozmrożeniu należy pozwolić komórkom dojść do siebie po procesie zamrażania przez co najmniej 24 do 48 godzin.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki NCH690 | 300120**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCH690 | 300120**Shipping Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

CSF1PO: 10,11
D13S317: 10,13
D16S539: 9,12
D5S818: 11,12
D7S820: 8,9
TH01: 9,9,3
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 14,17
D21S11: 29,32
D18S51: 17
Penta E: 12,20
Penta D: 10,12
D8S1179: 11,14
FGA: 22,24

Allele HLA

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