

Komórki NCH644 | 300124**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa NCH644 jest macierzystą linią komórkową glejaka wywodzącą się z guzów pacjentów, które nie posiadają amplifikacji EGFR, co czyni ją cennym modelem do badania biologii glejaka, zwłaszcza w kontekście sygnalizacji czynnika wzrostu i właściwości komórek macierzystych. Badania wykazały, że w komórkach NCH644 podstawowy czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF) odgrywa znaczącą rolę w pośredniczeniu we wzroście i utrzymywaniu cech komórek macierzystych, podczas gdy naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) nie wykazuje podobnych efektów. Komórki NCH644 reagują na bFGF poprzez zwiększenie ekspresji markerów komórek macierzystych, takich jak CD133 i nestin, a także wykazują zwiększoną odporność na apoptozę. Oporność ta, w połączeniu z brakiem amplifikacji EGFR, sprawia, że NCH644 jest odpowiednim modelem do zrozumienia zachowania komórek macierzystych glejaka, szczególnie w warunkach różnych czynników wzrostu.

Inną godną uwagi cechą NCH644 jest wolniejsze tempo proliferacji w porównaniu z innymi liniami komórek macierzystych glejaka, takimi jak NCH421k. Jednak po stymulacji przez bFGF, komórki NCH644 wykazują zwiększoną ekspresję EGFR, nawet przy braku amplifikacji EGFR, co podkreśla interakcję między receptorami czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR) a szlakami sygnalizacyjnymi EGFR. Co więcej, bFGF odgrywa rolę w zwiększaniu klonogenności i multipotencji komórek NCH644, co dodatkowo potwierdza pogląd, że bFGF ma kluczowe znaczenie dla utrzymania właściwości macierzystych glejaka tych komórek.

Wykazano również, że komórki NCH644 zawierają subpopulacje o powolnej cykliczności, które wykazują zwiększoną nowotworowość i oporność na leczenie, takie jak napromienianie i temozolomid. Ta subpopulacja komórek zatrzymujących znakowanie w linii NCH644 jest wysoce nowotworowa, zdolna do tworzenia guzów u myszy z obniżoną odpornością, nawet przy małej liczbie komórek. Te cechy, w połączeniu z ich opornością na standardowe leczenie, sprawiają, że NCH644 jest krytycznym narzędziem do badania strategii terapeutycznych ukierunkowanych na komórki macierzyste glejaka.

Organism Człowiek**Tissue** Mózg**Disease** Glejak wielopostaciowy**Charakterystyka****Age** 66 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Growth properties** Kultura sferoidalna**Dane regulacyjne**

Komórki NCH644 | 300124

Citation	NCH644 (numer katalogowy Cytion 300124)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x914
Depositor	C. Herold-Mende

Dane biomolekularne

Antigen expression	Wysoce CD133 dodatni
Tumorigenic	Tak
Ploidy status	Aneuploid

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 NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić 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 komórki 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	Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:5
Seeding density	2 x 10 ⁵ komórek/ml
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu

Komórki NCH644 | 300124**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.

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 mieszalinę 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

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Komórki NCH644 | 300124

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 cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 wykluczone 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: 12
D13S317: 10,13
D16S539: 12,13
D5S818: 9,10
D7S820: 12,13
TH01: 6,7
TPOX: 8,11
vWA: 15,19
PEZ6: B-LCL-CDG4