

Celice NCH644 | 300124

Splošne informacije

Description

Celična linija NCH644 je glioblastomu podobna matična celična linija, pridobljena iz tumorjev bolnikov, ki nimajo pomnožitve EGFR, zato je dragocen model za preučevanje biologije glioblastoma, zlasti glede signalizacije rastnih dejavnikov in lastnosti matičnih celic. Študije so pokazale, da ima v celicah NCH644 osnovni fibroblastni rastni dejavnik (bFGF) pomembno vlogo pri posredovanju rasti in ohranjanju lastnosti matičnih celic, medtem ko epidermalni rastni dejavnik (EGF) nima podobnih učinkov. Celice NCH644 se na bFGF odzivajo s povečanim izražanjem označevalcev matičnih celic, kot sta CD133 in nestin, in so tudi bolj odporne proti apoptozi. Zaradi te odpornosti in odsotnosti pomnožitve EGFR je NCH644 primeren model za razumevanje obnašanja matičnih celic glioblastoma, zlasti pod različnimi pogoji rastnih dejavnikov.

Druga pomembna značilnost NCH644 je njena počasnejša proliferacija v primerjavi z drugimi glioblastomskim matičnim celicam podobnimi linijami, kot je NCH421k. Vendar pa celice NCH644 ob stimulaciji z bFGF kažejo povečano izražanje EGFR, tudi če ni amplifikacije EGFR, kar poudarja interakcijo med receptorji za fibroblastni rastni faktor (FGFR) in signalnimi potmi EGFR. Poleg tega ima bFGF vlogo pri povečanju klonogenosti in multipotentnosti celic NCH644, kar dodatno potrjuje domnevo, da je bFGF ključnega pomena za ohranjanje gliomskih matičnih lastnosti teh celic.

Pokazalo se je tudi, da celice NCH644 vsebujejo subpopulacije, ki zadržujejo oznake in se počasi ciklično spreminjajo, kar kaže na povečano tumorigenihnost in odpornost na zdravljenje, kot sta obsevanje in temozolomid. Ta subpopulacija celic, ki ohranjajo oznako, v liniji NCH644 je zelo tumorigena in lahko tvori tumorje v imunsko oslabljenih miših tudi pri majhnem številu celic. Zaradi teh lastnosti in odpornosti na standardno zdravljenje je linija NCH644 ključno orodje za raziskovanje terapevtskih strategij, usmerjenih na matične celice glioblastoma.

Organism Človek

Tissue Možgani

Disease Glioblastom

Značilnosti

Age 66 let

Gender Ženske

Ethnicity Kavkaški

Growth properties Sferoidna kultura

Regulativni podatki

Celice NCH644 | 300124**Citation** NCH644 (kataloška številka Cytion 300124)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x914**Biomolekularni podatki****Antigen expression** Visoko CD133 pozitiven**Tumorigenic** Da**Ploidy status** Aneuploidni**Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 5 mg/L heparina, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramov/L EGF, 5 mg/L insulina, 100 mg/L transferina, 5,2 mikrograma/L Na-selenita, 6,3 mikrograma/L progesterona, 161,1 mikrograma/L putrescina, 50 mg/L hidrokortisona**Subculturing** Pri subkultiviranju sferoidnih kultur začnite z mehansko disociacijo sferoidov s pipetiranjem gor in dol 5 do 10-krat z uporabo Eppendorfove pipete s 1000 µl filtrirnimi konicami. Nato mešanico centrifugirajte pri 300 g 5 minut pri sobni temperaturi, da se celice izločijo. Zavržite supernatant in ponovno suspendirajte celično pelet v svežem gojišču. Resuspendirane celice prenesite v nove posode za gojenje, da spodbudite nadaljnjo tvorbo sferoidov. Ta pristop zagotavlja učinkovito razgradnjo sferoidov in jih pripravi za nadaljnjo rast v novem okolju**Seeding density** 2×10^5 celic/ml**Fluid renewal** 2 do 3-krat na teden**Post-Thaw Recovery** Po odmrznitvi pustite celice, da si opomorejo od postopka zamrzovanja vsaj 24 do 48 ur.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo 50 % osnovno gojišče + 40 % FBS + 10 % DMSO ali CM-1 (kataloška številka Cytion 800100), ki vsebuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, ki ga povzroča krio.

Celice NCH644 | 300124

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCH644 | 300124

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.