

NCH644 Hücreleri | 300124

Genel bilgi

Description

NCH644 hücre hattı, EGFR amplifikasyonu olmayan hasta tümörlerinden türetilen glioblastoma kök benzeri bir hücre hattıdır ve özellikle büyüme faktörü sinyali ve kök hücre özellikleri bağlamında glioblastoma biyolojisini incelemek için değerli bir modeldir. Çalışmalar, NCH644 hücrelerinde temel fibroblast büyüme faktörünün (bFGF) büyümeye aracılık etmede ve kök hücre özelliklerini korumada önemli bir rol oynadığını, epidermal büyüme faktörünün (EGF) ise benzer etkiler göstermediğini ortaya koymuştur. NCH644 hücreleri bFGF'ye CD133 ve nestin gibi kök hücre belirteçlerinin ekspresyonunu artırarak yanıt verir ve ayrıca apoptoza karşı gelişmiş direnç sergilerler. Bu direnç, EGFR amplifikasyonunun olmamasıyla birleştiğinde, NCH644'ü özellikle farklı büyüme faktörü koşulları altında glioblastoma kök benzeri hücre davranışını anlamak için uygun bir model haline getirir.

NCH644'ün dikkat çeken bir diğer özelliği de NCH421k gibi diğer glioblastoma kök benzeri hücre dizilerine kıyasla daha yavaş çoğalma hızıdır. Bununla birlikte, bFGF tarafından uyarıldığında, NCH644 hücreleri EGFR amplifikasyonu olmasa bile EGFR ekspresyonunda artış gösterir; bu da fibroblast büyüme faktörü reseptörleri (FGFR'ler) ve EGFR sinyal yolları arasındaki etkileşimi vurgular. Ayrıca bFGF, NCH644 hücrelerinin klonojenitesini ve çok yönlülüğünü artırmada rol oynar ve bFGF'nin bu hücrelerin glioma kök benzeri özelliklerini korumak için çok önemli olduğu fikrini daha da destekler.

NCH644 hücrelerinin ayrıca artan tümörjenisite ve ışınlama ve temozolomid gibi tedavilere direnç sergileyen etiket tutucu, yavaş döngülü alt popülasyonlar barındırdığı gösterilmiştir. NCH644 hattındaki etiket tutan hücrelerin bu alt popülasyonu oldukça tümörjeniktir ve küçük hücre sayılarıyla bile immün sistemi baskılanmış farelerde tümör oluşturabilir. Bu özellikler, standart tedavilere karşı dirençleriyle birleştiğinde, NCH644'ü glioblastoma kök hücrelerini hedef alan terapötik stratejilerin araştırılması için kritik bir araç haline getirmektedir.

Organism İnsan

Tissue Beyin

Disease Glioblastoma

Özellikler

Age 66 yıl

Gender Kadın

Ethnicity Kafkas

Growth properties Sferoid kültür

Düzenleyici Veriler

NCH644 Hücreleri | 300124**Citation** NCH644 (Cytion katalog numarası 300124)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x914**Biyomoleküler Veriler****Antigen expression** Yüksek oranda CD133 pozitif**Tumorigenic** Evet**Ploidy status** Aneuploid**Elleçleme****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820400a)**Supplements** Ortama %10 FBS, 5 mg/L Heparin, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L İnsülin, 100 mg/L Transferrin, 5,2 mikrogram/L Na-selenit, 6,3 mikrogram/L Progesteron, 161,1 mikrogram/L Putrescin, 50 mg/L Hidrokortison ekleyin**Subculturing** Sferoid kültürleri alt kültüre almak için, 1000 µl filtre uçlu bir Eppendorf pipet kullanarak 5 ila 10 kez aşağı yukarı pipetleme yoluyla sferoidleri mekanik olarak ayırarak başlayın. Bundan sonra, hücreleri peletlemek için karışımı oda sıcaklığında 5 dakika boyunca 300g'de santrifüjleyin. Süpernatantı atın ve hücre peletini taze kültür ortamında yeniden süspansen edin. Son olarak, daha fazla sferoid oluşumunu teşvik etmek için yeniden süspansen edilen hücreleri yeni kültür kaplarına aktarın. Bu yaklaşım etkili sferoid parçalanmasını sağlar ve onları yeni bir ortamda sürekli büyümeye hazırlar**Seeding density** 2×10^5 hücre/ml**Fluid renewal** haftada 2 ila 3 kez**Post-Thaw Recovery** Çözüldükten sonra hücrelerin en az 24 ila 48 saat boyunca dondurma işleminden kurtulmasına izin verin.

NCH644 Hücreleri | 300124**Freeze medium**

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, iyileşmeyi artırmak ve kriyo kaynaklı stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren %50 bazal ortam + %40 FBS + %10 DMSO veya CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyovialleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Product sheet

NCH644 Hücreleri | 300124

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.