

Клітини NCH644 | 300124

Загальна інформація

Description

Клітинна лінія NCH644 - це стовбурова лінія гліобластоми, отримана з пухлин пацієнтів, в яких відсутня ампліфікація EGFR, що робить її цінною моделлю для вивчення біології гліобластоми, особливо в контексті сигналізації факторів росту та властивостей стовбурових клітин. Дослідження показали, що в клітинах NCH644 основний фактор росту фібробластів (bFGF) відіграє важливу роль в опосередкуванні росту і підтримці властивостей стовбурових клітин, тоді як епідермальний фактор росту (EGF) не виявляє подібних ефектів. Клітини NCH644 реагують на bFGF збільшенням експресії маркерів стовбурових клітин, таких як CD133 і нестин, а також демонструють підвищену стійкість до апоптозу. Ця стійкість у поєднанні з відсутністю ампліфікації EGFR робить NCH644 підходящою моделлю для розуміння поведінки стовбурових клітин гліобластоми, особливо за різних умов дії ростових факторів.

Ще однією помітною особливістю NCH644 є повільніша швидкість проліферації порівняно з іншими стовбуровими клітинами гліобластоми, такими як NCH421k. Однак при стимуляції bFGF клітини NCH644 демонструють підвищену експресію EGFR, навіть за відсутності ампліфікації EGFR, що підкреслює взаємодію між рецепторами фактора росту фібробластів (FGFRs) і сигнальними шляхами EGFR. Крім того, bFGF відіграє роль у підвищенні клоногенності та мультипотентності клітин NCH644, що додатково підтверджує думку про те, що bFGF має вирішальне значення для підтримання стовбурових властивостей цих клітин, подібних до гліоми.

Також було показано, що клітини NCH644 містять субпопуляції з повільним циклом, що зберігають мітки, які демонструють підвищену пухлинну активність і стійкість до таких методів лікування, як опромінення і темозоломід. Ця субпопуляція клітин лінії NCH644, що утримують мітки, є високоонкогенною і здатна утворювати пухлини у мишей з ослабленим імунітетом навіть при невеликій кількості клітин. Ці особливості в поєднанні зі стійкістю до стандартних методів лікування роблять NCH644 важливим інструментом для дослідження терапевтичних стратегій, спрямованих на стовбурові клітини гліобластоми.

Organism Людина

Tissue Мозок

Disease Гліобlastома

Характеристики

Age 66 років

Gender Жінка

Ethnicity Кавказець

Growth properties Сфероїдна культура

Клітини NCH644 | 300124

Нормативні дані

Citation	NCH644 (номер за каталогом Cytion 300124)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x914

Біомолекулярні дані

Antigen expression	Високо позитивний CD133
Tumorigenic	Так
Ploidy status	Анеуплоїдний

Обробка

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO ₃ (цит. номер 820400a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 5 мг/л гепарину, 20 нг/мл bFGF, 20 мкг/л EGF, 5 мг/л інсуліну, 100 мг/л трансферину, 5,2 мкг/л Na-селеніту, 6,3 мкг/л прогестерону, 161,1 мкг/л путресцину, 50 мг/л гідрокортизону
Subculturing	Для субкультивування культур сфероїдів почніть з механічної дисоціації сфероїдів шляхом піпетування вгору і вниз 5-10 разів за допомогою піпетки Еппендорфа з фільтрувальними насадками на 1000 мкл. Після цього центрифугуйте суміш при 300g протягом 5 хвилин при кімнатній температурі, щоб осадити клітини. Відкиньте надосадову рідину і ресуспендуйте осад клітин у свіжому живильному середовищі. Нарешті, перенесіть ресуспендовані клітини в нові культуральне середовище, щоб сприяти подальшому утворенню сфероїдів. Цей підхід забезпечує ефективне розщеплення сфероїдів і готує їх до подальшого росту в новому середовищі
Seeding density	2 x 10 ⁵ клітин/мл
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень

Клітини NCH644 | 300124

Post-Thaw Recovery

Після розморожування дайте клітинам відновитися після процесу заморожування принаймні 24-48 годин.

Freeze medium

Як середовище криоконсервування ми використовуємо 50% базальне середовище + 40% FBS + 10% ДМСО або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для покращення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини NCH644 | 300124

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.