

## 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

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

## Біомолекулярні дані

<b>Antigen expression</b>	Високо позитивний CD133
<b>Tumorigenic</b>	Так
<b>Ploidy status</b>	Анеуплоїдний

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	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 <sub>3</sub> (цит. номер 820400a)
<b>Supplements</b>	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
<b>Subculturing</b>	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
<b>Seeding density</b>	2 x 10 <sup>5</sup> клітин/мл
<b>Fluid renewal</b>	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 кріоконсервування 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 кріоіндукованого 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$ , 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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

## 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.