

NCH690-celler | 300120

Generel information

Description

NCH640-cellelinjen er en glioblastom-stamcellelignende model, der bruges i forskning til at udforske mekanismerne for tumorresistens, cellulær overlevelse under stress og terapeutiske reaktioner. Glioblastom, en af de mest aggressive former for hjernetumorer, er vanskelig at behandle på grund af dens resistens over for behandling og tilpasning til et fjendtligt mikromiljø. NCH640 dyrkes i specialiserede medier som Neurobasal A med tilskud som B27, og dens vækst understøttes af vigtige vækstfaktorer som EGF og FGF-2. Den bruges ofte sammen med andre gliom-stamcellemodeller, såsom NCH690 og NCH644, til at undersøge disse biologiske fænomener.

Forskningen i NCH640 fokuserer i høj grad på dens resistensmekanismer, især under hypoxiske forhold. Gliomceller som NCH640 viser stor afhængighed af metaboliske tilpasninger, herunder ændret regulering af reaktive iltarter (ROS). Undersøgelser har vist, at målretning af veje som den integrerede stressrespons (ISR) i NCH640 og relaterede cellelinjer kan forbedre deres følsomhed over for terapier som temozolomid, som ofte bruges i glioblastombehandling. Disse resultater er vigtige for udviklingen af nye strategier til at overvinde gliomstamcellelignende cells iboende resistens over for standardbehandlinger.

Organism

Menneske

Tissue

Hjerne

Disease

Glioblastom

Karakteristika

Age

78 år

Gender

Kvinde

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Sfæroid kultur, delvist sammenhængende

Regulatoriske data

Citation

NCH690 (Cytion katalognummer 300120)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

NCH690-celler | 300120

CellosaurusAccession CVCL_x915

Biomolekylære data

Tumorigenic Yees

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS, 5 mg/L Heparin, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L Insulin, 100 mg/L Transferrin, 5,2 mikrogram/L Na-selenit, 6,3 mikrogram/L Progesteron, 161,1 mikrogram/L Putrescin, 50 mg/L Hydrocortison**Subculturing** For at subkultivere sfæroidkulturer skal du begynde med at adskille sfæroiderne mekanisk ved at pipettere op og ned 5 til 10 gange ved hjælp af en Eppendorf-pipette med 1000 µl filterspidser. Herefter centrifugeres blandingen ved 300 g i 5 minutter ved stuetemperatur for at pelleterer cellerne. Kassér supernatanten, og resuspender cellepelleten i frisk kulturmedium. Til sidst overføres de resuspenderede celler til nye dyrkningsbeholdere for at fremme yderligere sfæroiddannelse. Denne fremgangsmåde sikrer en effektiv nedbrydning af sfæroiderne og gør dem klar til fortsat vækst i et nyt miljø**Seeding density** 1×10^5 celler/ml**Fluid renewal** 2 til 3 gange om ugen**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne have lov til at komme sig over fryseprocessen i mindst 24 til 48 timer.**Freeze medium** Som kryopræserveringsmedium bruger vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

NCH690-celler | 300120

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NCH690-celler | 300120

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

A*: '03:01:01, '68:01:02
B*: '35:01:01, '47:01:01
C*: '04:01:01, '06:02:01
DRB1*: '07:01:01, '16:02:01
DQA1*: '01:02:02, '02:01:01
DQB1*: '02:02:01, '05:02:01
DPB1*: '04:01:01G, '04:02:01G
E: '01:01:01