

NCH644-celler | 300124

General information

Description

NCH644-cellelinjen er en glioblastom-stamcellelinje, der stammer fra patienttumorer, som ikke har EGFR-amplifikation, hvilket gør den til en værdifuld model til undersøgelse af glioblastom-biologi, især i forbindelse med vækstfaktorsignalering og stamcelleegenskaber. Undersøgelser har vist, at basal fibroblastvækstfaktor (bFGF) i NCH644-celler spiller en væsentlig rolle i formidlingen af vækst og opretholdelsen af stamcelleegenskaber, mens epidermal vækstfaktor (EGF) ikke udviser lignende effekter. NCH644-celler reagerer på bFGF ved at øge udtrykket af stamcellemarkører som CD133 og nestin, og de udviser også øget modstandsdygtighed over for apoptose. Denne resistens kombineret med manglen på EGFR-amplifikation gør NCH644 til en velegnet model til at forstå glioblastom-stamcellelignende adfærd, især under forskellige vækstfaktorforhold.

Et andet bemærkelsesværdigt træk ved NCH644 er dens langsommere spredningshastighed sammenlignet med andre glioblastom-stamlignende cellelinjer, såsom NCH421k. Men når de stimuleres af bFGF, viser NCH644-celler øget udtryk af EGFR, selv i fravær af EGFR-amplifikation, hvilket fremhæver samspillet mellem fibroblastvækstfaktorreceptorer (FGFR'er) og EGFR-signalveje. Desuden spiller bFGF en rolle i at øge NCH644-cellernes klonogenicitet og multipotens, hvilket yderligere understøtter forestillingen om, at bFGF er afgørende for at opretholde disse cellers gliomstammeligende egenskaber.

Det har også vist sig, at NCH644-celler indeholder mærkningsbevarende, langsomt cyklende subpopulationer, der udviser øget tumorigenicitet og resistens over for behandlinger som bestråling og temozolomid. Denne subpopulation af mærkningsbevarende celler i NCH644-linjen er meget tumorgenetisk og i stand til at danne tumorer i immunkompromitterede mus, selv med et lille antal celler. Disse egenskaber kombineret med deres modstandsdygtighed over for standardbehandlinger gør NCH644 til et kritisk værktøj til at undersøge terapeutiske strategier rettet mod glioblastom-stamceller.

Organism Menneske

Tissue Hjerne

Disease Glioblastom

Karakteristika

Age 66 år

Gender Kvinde

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Sfæroid kultur

Regulatoriske data

NCH644-celler | 300124

Citation NCH644 (Cytion katalognummer 300124)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x914

Biomolekylære data

Antigen expression Meget CD133-positiv

Tumorigenic Yees

Ploidy status Aneuploid

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 2×10^5 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.

NCH644-celler | 300124

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NCH644-celler | 300124

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris 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.

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 / Genetisk profil / HLA

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.