

NCH644 rakud | 300124

Üldine teave

Description

NCH644 rakuliin on glioblastoomi tüveline rakuliin, mis on saadud patsientide kasvujatest, millel puudub EGFR-i amplifikatsioon, mistõttu on see väärtuslik mudel glioblastoomi bioloogia uurimiseks, eriti kasvufaktorite signalisatsiooni ja tüvirakkude omaduste kontekstis. Uuringud on näidanud, et NCH644 rakkudes mängib põhiline fibroblastide kasvufaktor (bFGF) olulist rolli kasvu vahendamisel ja tüvirakkude omaduste säilitamisel, samas kui epidermise kasvufaktor (EGF) ei avalda samasugust mõju. NCH644 rakud reageerivad bFGF-le, suurendades tüvirakkude markerite, nagu CD133 ja nestin, ekspressiooni, ning neil on ka suurem vastupanu apoptoosile. See resistentsus koos EGFR-i amplifikatsiooni puudumisega teeb NCH644 sobilikuks mudeliks glioblastoomi tüvirakkude käitumise mõistmiseks, eriti erinevate kasvufaktorite tingimustes.

NCH644 teine tähelepanuväärne omadus on tema aeglasem proliferatsioonikiirus võrreldes teiste glioblastoomi tüvirakuliinidega, näiteks NCH421k. Kui NCH644 rakke stimuleeritakse bFGF-ga, on EGFR-i ekspressioon suurenenud isegi EGFR-i amplifikatsiooni puudumisel, mis rõhutab fibroblastide kasvufaktori retseptorite (FGFR-i) ja EGFR-i signaaliradade vastastikmõju. Lisaks sellele mängib bFGF rolli NCH644 rakkude klonogeensuse ja multipotentsuse suurendamisel, mis toetab veelgi arusaama, et bFGF on oluline nende rakkude glioomi tüveliste omaduste säilitamisel.

Samuti on näidatud, et NCH644 rakud sisaldavad märgistust säilitavaid, aeglase tsükliga alampopulatsioone, millel on suurenenud kasvajakujulisus ja resistentsus selliste ravimeetodite nagu kiiritus ja temozolomiid suhtes. See NCH644 liini märgistust säilitavate rakkude alampopulatsioon on väga tumorigeenne, olles võimeline moodustama immuunpuudulikkusega hiirtel kasvujaid isegi väikese rakkude arvu korral. Need omadused koos nende resistentsusega standardsete ravimeetodite suhtes teevad NCH644 kriitiliseks vahendiks glioblastoomi tüvirakkudele suunatud ravistrateegiate uurimisel.

Organism Inimene

Tissue Aju

Disease Glioblastoom

Omadused

Age 66 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Sfääriline kultuur

Regulatiivsed andmed

NCH644 rakud | 300124

Citation NCH644 (Cytioni katalooginumber 300124)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x914

Biomolekulaarsed andmed

Antigen expression Väga CD133-positiivne

Tumorigenic Jah

Ploidy status Aneuploidne

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Keskkonda täiendatakse 10% FBS, 5 mg/L hepariini, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogrammi/L EGF, 5 mg/L insuliini, 100 mg/L transferrini, 5,2 mikrogrammi/L Na-seleniit, 6,3 mikrogrammi/L progesteron, 161,1 mikrogrammi/L putresiin, 50 mg/L hüdrokortison

Subculturing Sferoidikultuuride subkultuurimiseks alustage sferoidide mehaanilise dissotsiatsiooniga, kasutades Eppendorfi pipetti, millel on 1000 µl filtritsikud, 5-10 korda üles-alla pipetiga. Pärast seda tsentrifuugige segu 300 g juures 5 minutit toatemperatuuril, et rakud pelleteerida. Visake supernatant ära ja resuspendeerige rakupellet värskes kultuurkeskkonnas. Lõpuks kandke resuspendeeritud rakud uutesse kasvatusanumatesse, et soodustada edasist sferoidide moodustumist. Selline lähenemine tagab sferoidide tõhusa lagunemise ja valmistab neid ette jätkuvaks kasvuks uues keskkonnas

Seeding density 2×10^5 rakku/ml

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Post-Thaw Recovery Pärast sulatamist laske rakkudel vähemalt 24-48 tundi külmutamisest taastuda.

NCH644 rakud | 300124

Freeze medium

Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude tervikluse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulutage vialid kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärseid katsetulemusi.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCH644 rakud | 300124

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.