

NCH690-solut | 300120

Yleisiä tietoja

Description

NCH640-solulinja on glioblastooman kantasolujen kaltainen solumalli, jota käytetään tutkimuksessa kasvaimen resistenssimekanismien, solujen selviytymisen stressitilanteissa ja terapeuttisten vasteiden tutkimiseen. Glioblastoomaa, yhtä aivokasvainten aggressiivisimmista muodoista, on vaikea hoitaa sen hoitoresistenssin ja vihamieliseen mikroympäristöön sopeutumisen vuoksi. NCH640:tä viljellään erikoistuneissa väliaineissa, kuten Neurobasal A:ssa, jossa on B27:n kaltaisia lisäaineita, ja sen kasvua tuetaan keskeisillä kasvutekijöillä, kuten EGF:llä ja FGF-2:lla. Sitä käytetään usein muiden glioomakantasolumallien, kuten NCH690:n ja NCH644:n, ohella näiden biologisten ilmiöiden tutkimiseen.

NCH640:n tutkimuksessa keskitytään voimakkaasti sen resistenssimekanismeihin erityisesti hypoksisissa olosuhteissa. NCH640:n kaltaiset glioomasolut osoittavat huomattavaa riippuvuutta aineenvaihdunnallisista mukautuksista, mukaan lukien muuttunut reaktiivisten happilajien (ROS) säätely. Tutkimukset ovat osoittaneet, että integroituneen stressivasteen (ISR) kaltaisten reittien kohdentaminen NCH640:ssä ja siihen liittyvissä solulinjoissa voi parantaa niiden herkkyyttä temotsolomidin kaltaisille hoidoille, joita käytetään yleisesti glioblastooman hoidossa. Nämä havainnot ovat tärkeitä uusien strategioiden kehittämiseksi, jotta voidaan voittaa gliooman kantasolujen luontainen resistenssi tavanomaisille hoitotoimenpiteille.

Organism Ihminen

Tissue Aivot

Disease Glioblastooma

Ominaisuudet

Age 78 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Palloviljelmä, osittain tarttuva

Säätelytiedot

Citation NCH690 (Cytionin luettelonumero 300120)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCH690-solut | 300120

CellosaurusAccession CVCL_x915

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic Kyllä

Käsittely

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 5 mg/l hepariinilla, 20 ng/mL bFGF:llä, 20 mikrogrammaa/l EGF:llä, 5 mg/l insuliinilla, 100 mg/l transferrinilla, 5,2 mikrogrammaa/l Na-selenitillä, 6,3 mikrogrammaa/l progesteronilla, 161,1 mikrogrammaa/l putresiinillä, 50 mg/l hydrokortisonilla**Subculturing** Sferoidiviljelmien subkulturointi aloitetaan dissosioimalla sferoidit mekaanisesti pipetoimalla 5-10 kertaa ylös ja alas käyttäen Eppendorf-pipettiä, jossa on 1000 µl:n suodatinkärjet. Tämän jälkeen seos sentrifugoidaan 300 g:n pyörimisnopeudella 5 minuutin ajan huoneenlämmössä solujen pelletöimiseksi. Hävitä supernatantti ja suspendoi solupelletti uudelleen tuoreeseen kasvatusmediumiin. Siirretään lopuksi resuspendoidut solut uusiin kasvatusastioihin, jotta edistetään sferoidien muodostumista. Tällä lähestymistavalla varmistetaan sferoidien tehokas hajoaminen ja valmistellaan ne jatkamaan kasvuaan uudessa ympäristössä**Seeding density** 1×10^5 solua/ml**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Sulatuksen jälkeen solujen annetaan toipua pakastusprosessista vähintään 24-48 tuntia.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

NCH690-solut | 300120

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCH690-solut | 300120

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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