

NCH644-solut | 300124

Yleisiä tietoja

Description

NCH644-solulinja on glioblastooman kantasolulinjan kaltainen solulinja, joka on peräisin potilaan kasvaimista, joissa ei ole EGFR-monistumista, mikä tekee siitä arvokkaan mallin glioblastooman biologian tutkimiseen erityisesti kasvutekijöiden signaloinnin ja kantasolujen ominaisuuksien osalta. Tutkimukset ovat osoittaneet, että NCH644-soluissa perusfibroblastikasvutekijällä (bFGF) on merkittävä rooli kasvun välittäjänä ja kantasoluominaisuuksien ylläpitäjänä, kun taas epidermisen kasvutekijän (EGF) vaikutukset eivät ole samanlaisia. NCH644-solut reagoivat bFGF:ään lisäämällä kantasolumarkkereiden, kuten CD133:n ja nestiinin, ilmentymistä, ja niillä on myös lisääntynyt vastustuskyky apoptoosia vastaan. Tämä resistenssi yhdessä EGFR:n monistumisen puuttumisen kanssa tekee NCH644-soluista sopivan mallin, jonka avulla voidaan ymmärtää glioblastooman kantasolujen kaltaisten solujen käyttäytymistä erityisesti erilaisissa kasvutekijäolosuhteissa.

Toinen merkittävä piirre NCH644:ssä on sen hitaampi lisääntymisnopeus verrattuna muihin glioblastooman kantasolulinjoihin, kuten NCH421k:hon. Kun NCH644-soluja stimuloidaan bFGF:llä, EGFR:n ilmentyminen kuitenkin lisääntyy, vaikka EGFR:n monistumista ei tapahdu, mikä korostaa fibroblastikasvutekijäreseptorien (FGFR) ja EGFR:n signaalireittien välistä vuorovaikutusta. Lisäksi bFGF:llä on merkitystä NCH644-solujen klonogeenisuuden ja monikykyisyyden lisäämisessä, mikä tukee edelleen käsitystä siitä, että bFGF:llä on ratkaiseva merkitys näiden solujen glioomakannan kaltaisten ominaisuuksien ylläpitämisessä.

NCH644-solujen on myös osoitettu sisältävän leimoja säilyttäviä, hitaasti kiertäviä osapopulaatioita, joilla on lisääntynyt kasvainten lisääntyminen ja resistenssi säteilytyksen ja temotsolomidin kaltaisille hoidoille. Tämä NCH644-linjan leimausta pidättävien solujen osapopulaatio on erittäin tumorigeeninen, ja se kykenee muodostamaan kasvaimia immuunipuutteisissa hiirissä jopa pienillä solumäärillä. Nämä ominaisuudet yhdistettynä niiden vastustuskykyyn tavanomaisille hoidoille tekevät NCH644-linjasta kriittisen työkalun, jolla voidaan tutkia glioblastooman kantasoluihin kohdistuvia hoitostrategioita.

Organism Ihminen

Tissue Aivot

Disease Glioblastooma

Ominaisuudet

Age 66 vuotta

Gender Nainen

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Palloviljely

Säätelytiedot

NCH644-solut | 300124

Citation	NCH644 (Cytionin luettelonumero 300124)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x914

Biomolekyytitiedot

Antigen expression	Erittäin CD133-positiivinen
Tumorigenic	Kyllä
Ploidy status	Aneuploidinen

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 NaHCO ₃ (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	2 x 10 ⁵ solua/ml
Fluid renewal	2-3 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulatuksen jälkeen solujen annetaan toipua pakastusprosessista vähintään 24-48 tuntia.

NCH644-solut | 300124

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se $37\text{ }^{\circ}\text{C}$: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 tarttuvia, 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

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

NCH644-solut | 300124

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä 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.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaisäilytystä 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

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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