

NCH690 sejtek | 300120

Általános információk

Description

Az NCH640 sejtvonal egy glioblasztóma őssejt-szerű sejtmodell, amelyet a kutatásban a tumorrezisztencia, a stressz alatti sejtűléés és a terápiás válaszok mechanizmusainak feltárására használnak. A glioblasztóma, az agydaganatok egyik legagresszívabb formája, nehezen kezelhető a terápiával szembeni rezisztencia és az ellenséges mikroköznyezethez való alkalmazkodás miatt. Az NCH640-et speciális táptalajban, például Neurobasal A-ban tenyésztik, olyan kiegészítőkkel, mint a B27, és növekedését olyan alapvető növekedési faktorok támogatják, mint az EGF és az FGF-2. Gyakran használják más glióma őssejtmodellel, például az NCH690 és az NCH644 modellel együtt e biológiai jelenségek vizsgálatára.

Az NCH640-re vonatkozó kutatások nagymértékben összpontosítanak a rezisztencia mechanizmusaira, különösen hipoxiás körülmények között. Az NCH640-hez hasonló glióma sejtek jelentős mértékben támaszkodnak a metabolikus adaptációkra, beleértve a reaktív oxigénfajok (ROS) megváltozott szabályozását. Vizsgálatok kimutatták, hogy az NCH640 és a rokon sejtvonalakban az olyan útvonalak, mint az integrált stresszválasz (ISR) célzott kezelése javíthatja az olyan terápiákkal szembeni érzékenységüket, mint a glioblasztóma kezelésében gyakran alkalmazott temozolomid. Ezek az eredmények fontosak olyan új stratégiák kidolgozásához, amelyekkel leküzdhető a glióma őssejtek eredendő rezisztenciája a standard terápiás beavatkozásokkal szemben.

Organism

Emberi

Tissue

Agy

Disease

Glioblastoma

Jellemzők

Age

78 év

Gender

Női

Ethnicity

Kaukázusi

Growth properties

Szferoid kultúra, részben tapadó

Szabályozási adatok

Citation

NCH690 (Cytion katalógusszám: 300120)

Biosafety level

1

NCH690 sejtek | 300120

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x915

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic Igen

A kezelése

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion 820400a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 5 mg/L heparinnal, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogramm/L EGF, 5 mg/L inzulin, 100 mg/L transferrin, 5,2 mikrogramm/L Na-selenit, 6,3 mikrogramm/L progeszteron, 161,1 mikrogramm/L putreszcin, 50 mg/L hidrokortizon

Subculturing A szferoidkultúrák szubkultiválásához kezdje a szferoidok mechanikus disszociációjával, 5-10 alkalommal történő fel-le pipettázással, 1000 µl-es szűrőhegyekkel ellátott Eppendorf pipettával. Ezt követően a sejtek pelletálásához centrifugálja az elegyet 300 g-nél 5 percig szobahőmérsékleten. Dobja el a felülúszót, és szuszpendálja újra a sejt pelletet friss táptalajban. Végül a reszuszendált sejteket helyezze át új tenyésztőedényekbe a további szferoidképződés elősegítése érdekében. Ez a megközelítés biztosítja a szferoidok hatékony lebomlását, és felkészíti őket az új környezetben történő további növekedésre

Seeding density 1×10^5 sejt/ml

Fluid renewal hetente 2-3 alkalommal

Post-Thaw Recovery A felolvasztás után hagyja, hogy a sejtek legalább 24-48 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból.

Freeze medium A kriokonzerváláshoz 50%-os alapközeget + 40% FBS + 10% DMSO-t vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) használunk, amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regeneráció fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

NCH690 sejtek | 300120

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , párasított légkör.**Flask Coating**

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCH690 sejtek | 300120

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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