

NCH644 sejtek | 300124

Általános információk

Description

Az NCH644 sejtvonal egy olyan glioblasztóma-össejt-szerű sejtvonal, amely olyan beteg tumorokból származik, amelyekből hiányzik az EGFR-amplifikáció, így értékes modell a glioblasztóma biológiájának tanulmányozására, különösen a növekedési faktorok jelátvitelének és az össejtek tulajdonságainak összefüggésében. Vizsgálatok kimutatták, hogy az NCH644 sejtekben a bázikus fibroblaszt növekedési faktor (bFGF) jelentős szerepet játszik a növekedés közvetítésében és az össejtjellemzők fenntartásában, míg az epidermális növekedési faktor (EGF) nem mutat hasonló hatást. Az NCH644 sejtek a bFGF-re az össejt-markerek, például a CD133 és a nestin expressziójának növelésével reagálnak, és az apoptózissal szembeni fokozott ellenállást is mutatnak. Ez a rezisztencia, valamint az EGFR-amplifikáció hiánya az NCH644-et megfelelő modellté teszi a glioblasztóma össejt-szerű viselkedésének megértéséhez, különösen különböző növekedési faktorok mellett.

Az NCH644 másik figyelemre méltó jellemzője a lassabb proliferációs ráta más glioblasztóma össejt-szerű sejtvonalakhoz, például az NCH421k-hoz képest. Ugyanakkor bFGF-fel stimulálva az NCH644 sejtek az EGFR fokozott expresszióját mutatják, még EGFR-amplifikáció hiányában is, ami rávilágít a fibroblaszt növekedési faktor receptorok (FGFR) és az EGFR jelátviteli útvonalak közötti kölcsönhatásra. Ezen túlmenően a bFGF szerepet játszik az NCH644 sejtek klonogenitásának és multipotenciájának növelésében, ami tovább erősíti azt az elképzelést, hogy a bFGF kulcsfontosságú e sejtek glióma össejt-szerű tulajdonságainak fenntartásában.

Az NCH644 sejtekről az is kiderült, hogy olyan jelölés-visszatartó, lassú ciklusú alpopulációkat tartalmaznak, amelyek fokozott tumorigenitást és rezisztenciát mutatnak olyan kezelésekkal szemben, mint a besugárzás és a temozolomid. Az NCH644-vonalon belül a jelölést visszatartó sejtek ezen alpopulációja erősen tumorgenikus, és képes tumorok kialakítására immunhiányos egerekben, még kis sejtszám esetén is. Ezek a tulajdonságok, valamint a standard kezelésekkal szembeni rezisztenciájuk az NCH644-et kritikus eszközzé teszik a glioblasztóma össejtjeit célzó terápiás stratégiák vizsgálatához.

Organism Emberi

Tissue Agy

Disease Glioblastoma

Jellemzők

Age 66 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

Growth properties Szferoid kultúra

Szabályozási adatok

NCH644 sejtek | 300124

Citation	NCH644 (Cytion katalógusszám 300124)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x914

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	Magasan CD133 pozitív
Tumorigenic	Igen
Ploidy status	Aneuploid

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 NaHCO ₃ (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 reszuszpendált 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	2 x 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.

NCH644 sejtek | 300124

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.

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 krioüveket 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót 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 sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

NCH644 sejtek | 300124

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.