

Sel NCH644 | 300124

Informasi umum

Description

Garis sel NCH644 adalah garis sel mirip batang glioblastoma yang berasal dari tumor pasien yang tidak memiliki amplifikasi EGFR, menjadikannya model yang berharga untuk mempelajari biologi glioblastoma, terutama dalam konteks pensinyalan faktor pertumbuhan dan sifat-sifat sel punca. Penelitian telah menunjukkan bahwa pada sel NCH644, faktor pertumbuhan fibroblast dasar (bFGF) memainkan peran penting dalam memediasi pertumbuhan dan mempertahankan karakteristik sel punca, sedangkan faktor pertumbuhan epidermal (EGF) tidak menunjukkan efek yang sama. Sel NCH644 merespons bFGF dengan meningkatkan ekspresi penanda sel punca seperti CD133 dan nestin, dan mereka juga menunjukkan peningkatan resistensi terhadap apoptosis. Resistensi ini, ditambah dengan kurangnya amplifikasi EGFR, membuat NCH644 menjadi model yang cocok untuk memahami perilaku sel mirip batang glioblastoma, terutama dalam kondisi faktor pertumbuhan yang berbeda.

Fitur penting lainnya dari NCH644 adalah tingkat proliferasi yang lebih lambat jika dibandingkan dengan garis sel mirip batang glioblastoma lainnya, seperti NCH421k. Namun, ketika distimulasi oleh bFGF, sel NCH644 menunjukkan peningkatan ekspresi EGFR, bahkan tanpa adanya amplifikasi EGFR, yang menyoroti interaksi antara reseptor faktor pertumbuhan fibroblast (FGFR) dan jalur pensinyalan EGFR. Selain itu, bFGF berperan dalam meningkatkan klonogenisitas dan multipotensi sel NCH644, yang selanjutnya mendukung anggapan bahwa bFGF sangat penting untuk mempertahankan sifat seperti batang glioma dari sel-sel ini.

Sel NCH644 juga telah terbukti memiliki subpopulasi penahan label, siklus lambat yang menunjukkan peningkatan tumorigenitas dan resistensi terhadap pengobatan seperti iradiasi dan temozolomide. Subpopulasi sel penahan label dalam garis NCH644 ini sangat tumorigenik, mampu membentuk tumor pada tikus yang mengalami gangguan kekebalan bahkan dengan jumlah sel yang kecil. Fitur-fitur ini, dikombinasikan dengan ketahanannya terhadap pengobatan standar, menjadikan NCH644 alat yang penting untuk menyelidiki strategi terapeutik yang menargetkan sel punca glioblastoma.

Organism Manusia

Tissue Otak

Disease Glioblastoma

Karakteristik

Age 66 tahun

Gender Perempuan

Ethnicity Kaukasia

Growth properties Kultur spheroid

Sel NCH644 | 300124

Data Peraturan

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

Data Biomolekuler

Antigen expression	Sangat positif CD133
Tumorigenic	Ya
Ploidy status	Aneuploid

Penanganan

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukosa, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natrium piruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Nomor artikel Cytion 820400a)
Supplements	Suplemen media dengan 10% FBS, 5 mg/L Heparin, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L Insulin, 100 mg/L Transferin, 5,2 mikrogram/L Na-selenit, 6,3 mikrogram/L Progesteron, 161,1 mikrogram/L Putrescin, 50 mg/L Hydrocortison
Subculturing	Untuk subkultur kultur sferoid, mulailah dengan memisahkan sferoid secara mekanis melalui pemipetan ke atas dan ke bawah sebanyak 5 hingga 10 kali menggunakan pipet Eppendorf dengan ujung filter 1000 µl. Setelah itu, sentrifugasi campuran tersebut pada 300g selama 5 menit pada suhu kamar untuk memecah sel. Buang supernatan dan resuspensi pelet sel dalam media kultur segar. Terakhir, pindahkan sel yang telah diresuspendi ke dalam bejana kultur baru untuk mendorong pembentukan sferoid lebih lanjut. Pendekatan ini memastikan pemecahan sferoid yang efisien dan mempersiapkan mereka untuk pertumbuhan berkelanjutan di lingkungan baru
Seeding density	2 x 10 ⁵ sel/ml
Fluid renewal	2 hingga 3 kali per minggu

Sel NCH644 | 300124

Post-Thaw Recovery

Setelah pencairan, biarkan sel pulih dari proses pembekuan setidaknya selama 24 hingga 48 jam.

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan 50% media basal + 40% FBS + 10% DMSO, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , $5\% \text{CO}_2$, atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

Sel NCH644 | 300124

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.