

NCH690 Cellen | 300120

Algemene informatie

Description

De NCH640 cellijn is een glioblastoma stamcelmodel dat gebruikt wordt in onderzoek om de mechanismen van tumorresistentie, cellulaire overleving onder stress en therapeutische reacties te onderzoeken. Glioblastoom, een van de meest agressieve vormen van hersentumoren, is moeilijk te behandelen vanwege de resistentie tegen therapie en de aanpassing aan een vijandige micro-omgeving. NCH640 wordt gekweekt in gespecialiseerde media zoals Neurobasal A met supplementen zoals B27, en zijn groei wordt ondersteund door essentiële groeifactoren zoals EGF en FGF-2. Het wordt vaak gebruikt naast andere glioma stamcelmodellen, zoals NCH690 en NCH644, om deze biologische fenomenen te onderzoeken.

Het onderzoek naar NCH640 richt zich vooral op de resistentiemechanismen, met name onder hypoxische omstandigheden. Gliomacellen zoals NCH640 zijn in hoge mate afhankelijk van metabole aanpassingen, waaronder een veranderde regulatie van reactieve zuurstofsoorten (ROS). Studies hebben aangetoond dat het richten van pathways zoals de geïntegreerde stressrespons (ISR) in NCH640 en verwante cellijnen hun gevoeligheid voor therapieën zoals temozolomide, dat vaak wordt gebruikt bij de behandeling van glioblastoom, kan verbeteren. Deze bevindingen zijn belangrijk voor het bedenken van nieuwe strategieën om de inherente resistentie van glioma stamcellen tegen standaard therapeutische interventies te overwinnen.

Organism Mens

Tissue Hersenen

Disease Glioblastoom

Kenmerken

Age 78 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Sferoïdale cultuur, gedeeltelijk aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation NCH690 (Cytion catalogusnummer 300120)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCH690 Cellen | 300120

CellosaurusAccession CVCL_x915**Depositor** C. Herold-Mende**Biomoleculaire gegevens****Tumorigenic** Ja**Omgaan met****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 5 mg/L heparine, 20 ng/mL bFGF, 20 microgram/L EGF, 5 mg/L insuline, 100 mg/L transferrine, 5,2 microgram/L Na-selenit, 6,3 microgram/L progesteron, 161,1 microgram/L putrescine, 50 mg/L hydrocortison**Subculturing** Voor subcultuur sferoïde culturen, beginnen met het mechanisch scheiden van de sferoïden door pipetteren op en neer 5 tot 10 keer met behulp van een Eppendorf pipet met 1000 ul filtertips. Hierna centrifugeer je het mengsel bij 300g gedurende 5 minuten bij kamertemperatuur om de cellen te pelleren. Gooi het supernatant weg en resuspendeer de celpellet in vers kweekmedium. Breng ten slotte de geresuspendeerde cellen over in nieuwe kweekvaten om verdere sferoïdvorming te bevorderen. Deze aanpak zorgt voor een efficiënte afbraak van de sferoïden en maakt ze klaar voor verdere groei in een nieuwe omgeving**Split ratio** Afhankelijk van de groeisnelheid wordt een verhouding van 1:2 tot 1:5 aanbevolen**Seeding density** 1×10^5 cellen/ml**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Post-Thaw Recovery** Laat de cellen na het ontdooien minstens 24 tot 48 uur bijkomen van het vriesproces.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we 50% basaal medium + 40% FBS + 10% DMSO, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en cryogeïnduceerde stress te verminderen.

NCH690 Cellen | 300120

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NCH690 Cellen | 300120

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

CSF1PO: 10,11
D13S317: 10,13
D16S539: 9,12
D5S818: 11,12
D7S820: 8,9
TH01: 9,9.3
TPOX: 8,11
vWA: 18
D3S1358: 14,17
D21S11: 29,32
D18S51: 17
Penta E: 12,20
Penta D: 10,12
D8S1179: 11,14
FGA: 22,24

HLA-allelen

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