

NCH644 Cellen | 300124

Algemene informatie

Description

De NCH644 cellijn is een glioblastoma stam-achtige cellijn afgeleid van patiëntentumoren zonder EGFR amplificatie, waardoor het een waardevol model is voor het bestuderen van glioblastoma biologie, vooral in de context van groeifactor signalering en stamcellen eigenschappen. Studies hebben aangetoond dat in NCH644 cellen, basis fibroblast groeifactor (bFGF) een belangrijke rol speelt in het mediëren van groei en het handhaven van stamcel eigenschappen, terwijl epidermale groeifactor (EGF) geen vergelijkbare effecten vertoont. NCH644 cellen reageren op bFGF door de expressie van stamcelmarkers zoals CD133 en nestine te verhogen, en ze vertonen ook een verhoogde weerstand tegen apoptose. Deze resistentie, gekoppeld aan het ontbreken van EGFR-amplificatie, maakt NCH644 een geschikt model voor het begrijpen van glioblastoma stamcelgedrag, met name onder verschillende groeifactorcondities.

Een ander opvallend kenmerk van NCH644 is de lagere proliferatiesnelheid vergeleken met andere glioblastoma stamcel-achtige cellijnen, zoals NCH421k. Wanneer NCH644 cellen echter gestimuleerd worden door bFGF, vertonen ze een verhoogde expressie van EGFR, zelfs zonder EGFR-amplificatie, wat de interactie tussen fibroblast-groeifactorreceptoren (FGFR's) en EGFR-signaleringsroutes benadrukt. Bovendien speelt bFGF een rol in het verhogen van de klonogeniciteit en multipotentie van NCH644 cellen, wat het idee verder ondersteunt dat bFGF cruciaal is voor het behoud van de glioma stam-achtige eigenschappen van deze cellen.

Er is ook aangetoond dat NCH644 cellen labelbehoudende, traagcyclerende subpopulaties bevatten die een verhoogde tumorigeniciteit vertonen en resistent zijn tegen behandelingen zoals bestraling en temozolomide. Deze subpopulatie van label-behoudende cellen binnen de NCH644-lijn is zeer tumorigenic, in staat om tumoren te vormen in immuungecompromitteerde muizen, zelfs met kleine aantallen cellen. Deze eigenschappen, gecombineerd met hun resistentie tegen standaardbehandelingen, maken NCH644 tot een cruciaal instrument voor het onderzoeken van therapeutische strategieën gericht op glioblastoma-stamcellen.

Organism Mens

Tissue Hersenen

Disease Glioblastoom

Kenmerken

Age 66 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Sferoïdecultuur

Regelgevende gegevens

NCH644 Cellen | 300124

Citation	NCH644 (Cytion catalogusnummer 300124)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x914
Depositor	C. Herold-Mende

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression	Zeer CD133 positief
Tumorigenic	Ja
Ploidy status	Aneuploïde

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 NaHCO ₃ (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	Een verhouding van 1:2 tot 1:5 wordt aanbevolen
Seeding density	2×10^5 cellen/ml
Fluid renewal	2 tot 3 keer per week

NCH644 Cellen | 300124

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.

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

NCH644 Cellen | 300124

Freezing Procedure

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

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: 12
D13S317: 10,13
D16S539: 12,13
D5S818: 9,10
D7S820: 12,13
TH01: 6,7
TPOX: 8,11
vWA: 15,19
PEZ6: B-LCL-CDG4