

NCH644-celler | 300124

Generell informasjon

Description

NCH644-cellelinjen er en glioblastom-stamcellelinje som stammer fra pasienttumorer som mangler EGFR-amplifisering, noe som gjør den til en verdifull modell for å studere glioblastom-biologi, spesielt i forbindelse med vekstfaktorsignalering og stamcelleegenskaper. Studier har vist at basisk fibroblastvekstfaktor (bFGF) spiller en viktig rolle i NCH644-celler når det gjelder å formidle vekst og opprettholde stamcelleegenskaper, mens epidermal vekstfaktor (EGF) ikke viser tilsvarende effekter. NCH644-celler reagerer på bFGF ved å øke uttrykket av stamcellemarkører som CD133 og nestin, og de utviser også økt motstand mot apoptose. Denne resistensen, kombinert med mangelen på EGFR-amplifisering, gjør NCH644 til en egnet modell for å forstå glioblastom-stamcellelignende cellers atferd, særlig under ulike vekstfaktorbetingelser.

Et annet bemerkelsesverdige trekk ved NCH644 er den langsommere proliferasjonshastigheten sammenlignet med andre glioblastomstammeligende cellelinjer, som NCH421k. Når NCH644-celler stimuleres med bFGF, viser de imidlertid økt uttrykk av EGFR, selv uten EGFR-amplifisering, noe som understreker samspillet mellom fibroblastvekstfaktorreseptorer (FGFR) og EGFR-signalveier. Videre spiller bFGF en rolle i å øke klonogenisiteten og multipotensiteten til NCH644-celler, noe som ytterligere underbygger at bFGF er avgjørende for å opprettholde de gliomstammeligende egenskapene til disse cellene.

NCH644-celler har også vist seg å inneholde subpopulasjoner av celler som holder på merkelappene, og som utviser økt tumorigenisitet og resistens mot behandlinger som bestråling og temozolomid. Denne subpopulasjonen av celler i NCH644-linjen er svært tumorgenetiske, og er i stand til å danne svulster i immunkompromitterte mus selv med et lavt antall celler. Disse egenskapene, kombinert med deres resistens mot standardbehandlinger, gjør NCH644 til et viktig verktøy for å undersøke terapeutiske strategier rettet mot glioblastom-stamceller.

Organism Menneskelig

Tissue Hjerne

Disease Glioblastom

Kjennetegn

Age 66 år

Gender Kvinne

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Sfæroid kultur

Regulatoriske data

NCH644-celler | 300124

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

Biomolekylære data

Antigen expression	Sterkt CD133-positiv
Tumorigenic	Ja
Ploidy status	Aneuploid

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)
Supplements	Suppler med 10 % FBS, 5 mg/L heparin, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L insulin, 100 mg/L transferrin, 5,2 mikrogram/L Na-selenit, 6,3 mikrogram/L progesteron, 161,1 mikrogram/L putrescin, 50 mg/L hydrocortison
Subculturing	For subkulturer av sfæroidkulturer begynner du med å dissosiere sfæroidene mekanisk ved å pipettere opp og ned 5 til 10 ganger med en Eppendorf-pipette med 1000 µl filterspisser. Deretter sentrifugeres blandingen ved 300 g i 5 minutter ved romtemperatur for å pelletere cellene. Kast supernatanten, og resuspender cellepelletten i nytt dyrkingsmedium. Overfør til slutt de resuspenderte cellene til nye dyrkningsbeholdere for å fremme ytterligere sfæroiddannelse. Denne fremgangsmåten sikrer effektiv nedbrytning av sfæroidene og gjør dem klare for fortsatt vekst i et nytt miljø
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:5 anbefales
Seeding density	2 x 10 ⁵ celler/ml
Fluid renewal	2 til 3 ganger per uke

NCH644-celler | 300124

Post-Thaw Recovery

Etter tining skal cellene få komme seg etter fryseprosessen i minst 24 til 48 timer.

Freeze medium

Som kryopreserveringsmedium bruker vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCH644-celler | 300124

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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