

## NCH421K rakud | 300118

## Üldine teave

## Description

NCH421K on inimese glioblastoomi tüvirakkudele sarnane rakuliin, mis on saadud täiskasvanud patsiendilt võetud esmasest glioblastoomi kasvajast. See rakuliin kuulub kasvajate algatajate rühma, mis säilitavad närvitüvirakkude peamised omadused, sealhulgas eneseuuenemisvõime, multipotentsuse ja võime jäljendada kasvaja heterogeensust. NCH421K rakke kasvatatakse tavaliselt seerumivabades tingimustes ja need kasvavad mittekinnitunud neurosfääradena, mis on tüvirakkudele sarnaste glioomikultuuride tunnuseks. Need ekspresseerivad kanonilisi tüvirakkude markereid, nagu CD133 ja nestin, mis toetab nende klassifitseerimist glioblastoomi tüvirakkudele sarnase mudelina.

NCH421K kasv ja ellujäämine sõltuvad tugevalt põhilisest fibroblastide kasvufaktorist (bFGF), mis soodustab proliferatsiooni ja tüvirakkudele omaste omaduste säilitamist, samas kui epidermaalne kasvufaktor (EGF) avaldab selle laienemisele minimaalset mõju. Rakud säilitavad bFGF-stimulatsiooni all tüvirakkude markerite kõrge ekspressiooni ja näitavad võimet moodustada kasvajaid in vivo, rõhutades nende kasvajate tekitamise potentsiaali. Nende omaduste tõttu kasutatakse NCH421K laialdaselt glioblastoomi tüvirakkude bioloogia, raviresistentsuse, diferentseerumisstrateegiate uuringutes ning kasvajate algatajarakkude populatsioonide hävitamisele suunatud sihtotstarbeliste ravimeetodite hindamisel.

Selle rakuliini lõi Christel Herold-Mende glioblastoomi koest.

<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Aju
<b>Disease</b>	Glioblastoom
<b>Synonyms</b>	NCH421k

## Omadused

<b>Age</b>	66 aastat
<b>Gender</b>	Mees
<b>Ethnicity</b>	Kaukaasia
<b>Growth properties</b>	Sfääriline kultuur

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	NCH421K (Cytioni katalooginumber 300118)
-----------------	--

## NCH421K rakud | 300118

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_x910**Biomolekulaarsed andmed****Tumorigenic** Jah**Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Keskkonda täiendatakse 10% FBS, 5 mg/L hepariini, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogrammi/L EGF, 5 mg/L insuliini, 100 mg/L transferrini, 5,2 mikrogrammi/L Na-seleniit, 6,3 mikrogrammi/L progesteron, 161,1 mikrogrammi/L putresiin, 50 mg/L hüdrokortison**Doubling time** 35-40 tundi**Subculturing** Sferoidikultuuride subkultuurimiseks alustage sferoidide mehaanilise dissotsiatsiooniga, kasutades Eppendorfi pipetti, millel on 1000 µl filtritsikud, 5-10 korda üles-alla pipetiga. Pärast seda tsentrifuugige segu 300 g juures 5 minutit toatemperatuuril, et rakud pelleteerida. Visake supernatant ära ja resuspenseerige rakupellet värskes kultuurkeskkonnas. Lõpuks kandke resuspendeeritud rakud uutesse kasvatusanumatesse, et soodustada edasist sferoidide moodustumist. Selline lähenemine tagab sferoidide tõhusa lagunemise ja valmistab neid ette jätkuvaks kasvuks uues keskkonnas**Seeding density** 1 kuni  $2 \times 10^5$  rakku/ml**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Laske rakkudel külmutusprotsessist taastuda vähemalt 24-48 tundi.**Freeze medium** Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

**NCH421K rakud | 300118****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige rakuksuspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## NCH421K rakud | 300118

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**A\***: '24:02:01, '24:03:01

**B\***: '07:02:01, '18:01:01

**C\***: '05:01:01, '07:02:01

**DRB1\***: '03:01:01, '15:02:01G

**DQA1\***: '01:03:01, '05:01:01

**DQB1\***: '02:01:01, '06:01:01

**DPB1\***: '04:01:01

**E**: '01:01:01