

NCH690 rakud | 300120

Üldine teave

Description

NCH640 rakuliin on glioblastoomi tüvirakkude mudel, mida kasutatakse teadusuuringutes, et uurida tuumori resistentsuse mehhanisme, rakkude ellujäämist stressi all ja ravivastuseid. Glioblastoomi, mis on üks kõige agressiivsemaid ajukasvajate vorme, on raske ravida, kuna see on resistentne ravile ja kohaneb vaenuliku mikrokeskkonnaga. NCH640 kultiveeritakse spetsiaalsetes keskkondades, nagu Neurobasal A koos lisadega, nagu B27, ning selle kasvu toetavad olulised kasvufaktorid, nagu EGF ja FGF-2. Seda kasutatakse sageli koos teiste glioomi tüvirakkude mudelitega, nagu NCH690 ja NCH644, et uurida neid bioloogilisi nähtusi.

NCH640 uuringutes keskendutakse suuresti selle resistentsusmehhanismidele, eriti hüpoksilistes tingimustes. Glioomirakud nagu NCH640 näitavad olulist sõltuvust metaboolsetest kohandustest, sealhulgas muutunud reaktiivsete hapnikuliikide (ROS) regulatsioonist. Uuringud on näidanud, et NCH640 ja sellega seotud rakuliinide sihtrada, nagu integreeritud stressireaktsioon (ISR), võib parandada nende tundlikkust selliste ravimeetodite suhtes nagu temozolomiid, mida tavaliselt kasutatakse glioblastoomi ravis. Need leiud on olulised uute strateegiate väljatöötamisel, et ületada glioomi tüvirakkude loomupärast resistentsust standardsete terapeutiliste sekkumiste suhtes.

Organism Inimene

Tissue Aju

Disease Glioblastoom

Omadused

Age 78 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Sferoidkultuur, osaliselt kleepuv

Regulatiivsed andmed

Citation NCH690 (Cytioni katalooginumber 300120)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

NCH690 rakud | 300120

CellosaurusAccession CVCL_x915

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 NaHCO₃ (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**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** 1×10^5 rakku/ml**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist laske rakkudel vähemalt 24-48 tundi külmutamisest taastuda.**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.

NCH690 rakud | 300120

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCH690 rakud | 300120

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*: '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