

## NCH421K-solut | 300118

## Yleisiä tietoja

## Description

NCH421K on ihmisen glioblastooman kantasolujen kaltainen solulinja, joka on peräisin aikuispotilaalta otetusta primaarisesta glioblastoomakasvaimesta. Tämä solulinja kuuluu kasvaimen alkuperäisten solujen luokkaan, jotka säilyttävät hermokantasolujen keskeiset ominaisuudet, kuten kyvyn uusiutua, monipotenssin ja kyvyn jäljitellä kasvaimen heterogeenisyyttä. NCH421K-soluja viljellään tyypillisesti seerumittomissa olosuhteissa, ja ne kasvavat kiinnittymättöminä neurosfääreinä, mikä on tyypillistä kantasolumaisille glioomaviljelmille. Ne ilmentävät tyypillisiä kantasolumarkkereita, kuten CD133:a ja nestiniä, mikä tukee niiden luokittelua glioblastooman kantasolumaiseksi malliksi.

NCH421K:n kasvu ja eloonjääminen ovat vahvasti riippuvaisia perusfibroblastikasvutekijästä (bFGF), joka edistää proliferaatiota ja kantasolumaisien ominaisuuksien ylläpitoa, kun taas epidermaalaisella kasvutekijällä (EGF) on vain vähäinen vaikutus sen lisääntymiseen. Solut säilyttävät korkean kantasolumarkkerien ilmentymisen bFGF-stimulaation alaisina ja osoittavat kykyä muodostaa kasvaimia in vivo, mikä korostaa niiden tuumorigeenistä potentiaalia. Näiden ominaisuuksien vuoksi NCH421K:ta käytetään laajalti glioblastooman kantasolubiologian, terapeuttisen resistenssin, erilaistumisstrategioiden ja kasvaimen aloittavien solupopulaatioiden hävittämiseen tähtäävien kohdennettujen hoitojen arvioinnin tutkimuksissa.

Tämän solulinjan perusti Christel Herold-Mende glioblastoomakudoksesta.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Aivot

**Disease** Glioblastooma

**Synonyms** NCH421k

## Ominaisuudet

**Age** 66 vuotta

**Gender** Mies

**Ethnicity** Kaukasialainen

**Growth properties** Palloviljely

## Säätelytiedot

**Citation** NCH421K (Cytionin luettelonumero 300118)

## NCH421K-solut | 300118

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_x910**Biomolekyylitiedot****Tumorigenic** Kyllä**Käsittely****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820400a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 5 mg/l hepariinilla, 20 ng/mL bFGF:llä, 20 mikrogrammaa/l EGF:llä, 5 mg/l insuliinilla, 100 mg/l transferrinilla, 5,2 mikrogrammaa/l Na-selenitillä, 6,3 mikrogrammaa/l progesteronilla, 161,1 mikrogrammaa/l putresiinillä, 50 mg/l hydrokortisonilla**Doubling time** 35-40 tuntia**Subculturing** Sferoidiviljelmien subkulturointi aloitetaan dissosioimalla sferoidit mekaanisesti pipetoimalla 5-10 kertaa ylös ja alas käyttäen Eppendorf-pipettiä, jossa on 1000 µl:n suodatinkärjet. Tämän jälkeen seos sentrifugoidaan 300 g:n pyörimisnopeudella 5 minuutin ajan huoneenlämmössä solujen pelletöimiseksi. Hävitä supernatantti ja suspendoi solupelletti uudelleen tuoreeseen kasvatusmediumiin. Siirretään lopuksi resuspendoidut solut uusiin kasvatusastioihin, jotta edistetään sferoidien muodostumista. Tällä lähestymistavalla varmistetaan sferoidien tehokas hajoaminen ja valmistellaan ne jatkamaan kasvuaan uudessa ympäristössä**Seeding density** 1-2 x 10<sup>5</sup> solua/ml**Fluid renewal** 2-3 kertaa viikossa**Post-Thaw Recovery** Anna solujen toipua pakastuksesta vähintään 24-48 tuntia.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

## NCH421K-solut | 300118

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ :n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta  $300 \times g$ :n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ :ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## NCH421K-solut | 300118

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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