

Клетки NCH421K | 300118

Обща информация

Description

NCH421K е клетъчна линия от човешки глиобластома, подобна на стволови клетки, получена от първична глиобластома, взета от възрастен пациент. Тази клетъчна линия принадлежи към клас туморни инициаторни клетки, които запазват ключови характеристики на невроналните стволови клетки, включително способност за самообновяване, мултипотентност и способност да възпроизвеждат туморната хетерогенност. Клетките NCH421K обикновено се култивират в условия без серум и растат като неприлепващи невросфери, което е характерна черта на културите на глиоми, подобни на стволови клетки. Те експресират канонични маркери на стволови клетки, като CD133 и нестин, което подкрепя класификацията им като модел, подобен на стволови клетки на глиобластома.

NCH421K проявява растеж и оцеляване, които са силно зависими от основния фибропластен растежен фактор (bFGF), който стимулира пролиферацията и поддържането на стволоподобни характеристики, докато епидермалният растежен фактор (EGF) има минимален ефект върху разрастването му. Клетките поддържат висока експресия на маркери за стволови клетки при стимулация с bFGF и демонстрират способност да образуват тумори *in vivo*, което подчертава техния туморогенен потенциал. Благодарение на тези свойства, NCH421K се използва широко в проучвания на биологията на стволовите клетки на глиобластома, терапевтичната резистентност, стратегиите за диференциация и оценката на целеви лечения, насочени към ерадикация на популациите от клетки, инициращи тумора.

Тази клетъчна линия е създадена от Кристел Херолд-Менде от тъкан на глиобластома.

Organism

Човек

Tissue

Мозък

Disease

Глиобластом

Synonyms

NCH421k

Характеристики

Age

66 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Growth properties

Сфероидна култура

Регулаторни данни

Клетки NCH421K | 300118

Citation	NCH421K (каталожен номер 300118 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x910

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Да
--------------------	----

Работа с

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 5 mg/L хепарин, 20 ng/mL bFGF, 20 microgram/L EGF, 5 mg/L инсулин, 100 mg/L трансферин, 5,2 microgram/L Na-selenit, 6,3 microgram/L прогестерон, 161,1 microgram/L путресцин, 50 mg/L хидрокортизон
Doubling time	35 до 40 часа
Subculturing	За субкултивиране на сфероидните култури започнете с механично разделяне на сфероидите чрез пипетиране нагоре-надолу 5 до 10 пъти с помощта на пипета Eppendorf с 1000 µl филтърни накрайници. След това центрофугирайте сместа при 300 g в продължение на 5 минути при стайна температура, за да се изсипят клетките. Изхвърлете супернатантата и ресуспендирайте клетъчната пелета в свежа хранителна среда. Накрая прехвърлете ресуспендираните клетки в нови съдове за култивиране, за да стимулирате по-нататъшното формиране на сфероиди. Този подход осигурява ефективно разпадане на сфероидите и ги подготвя за продължаване на растежа в нова среда
Seeding density	1 до 2 x 10 ⁵ клетки/ml
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	Моля, оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване за поне 24-48 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме 50% базова среда + 40% FBS + 10% DMSO или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки NCH421K | 300118

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки NCH421K | 300118

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

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