

Buňky NCH421K | 300118

Obecné informace

Description

NCH421K je lidská buněčná linie podobná kmenovým buňkám glioblastomu, odvozená z primárního glioblastomu odebraného dospělému pacientovi. Tato buněčná linie patří do skupiny nádorových iniciujících buněk, které si zachovávají klíčové vlastnosti nervových kmenových buněk, včetně schopnosti sebeobnovy, multipotence a schopnosti reprodukovat nádorovou heterogenitu. Buňky NCH421K se obvykle kultivují v bezsérových podmínkách a rostou jako neadhezivní neurosféry, což je charakteristický znak kmenových kultur gliomů. Exprimují kanonické markery kmenových buněk, jako jsou CD133 a nestin, což podporuje jejich klasifikaci jako modelu kmenových buněk glioblastomu.

NCH421K vykazuje růst a přežití, které jsou silně závislé na bazickém fibroblastovém růstovém faktoru (bFGF), který podporuje proliferaci a udržení kmenových charakteristik, zatímco epidermální růstový faktor (EGF) má na jeho expanzi minimální vliv. Buňky si při stimulaci bFGF udržují vysokou expresi markerů kmenových buněk a vykazují schopnost tvořit nádory in vivo, což podtrhuje jejich tumorigenní potenciál. Díky těmto vlastnostem je NCH421K široce využívána ve studiích biologie kmenových buněk glioblastomu, terapeutické rezistence, diferenciací strategií a hodnocení cílených léčebných postupů zaměřených na eradikaci populací buněk iniciujících nádor.

Tuto buněčnou linii založila Christel Herold-Mende z tkáně glioblastomu.

Organism Člověk

Tissue Mozek

Disease Glioblastom

Synonyms NCH421k

Charakteristika

Age 66 let

Gender Muži

Ethnicity Kavkazský

Growth properties Sféroïdní kultura

Regulační údaje

Citation NCH421K (katalogové číslo Cytion 300118)

Buňky NCH421K | 300118

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x910**Depositor** C. Herold-Mende**Biomolekulární data****Tumorigenic** Ano**Zpracování****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte médium 10% FBS, 5 mg/l heparinu, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramů/l EGF, 5 mg/l inzulinu, 100 mg/l transferinu, 5,2 mikrogramů/l Na-selenitu, 6,3 mikrogramů/l progesteronu, 161,1 mikrogramů/l putrescinu, 50 mg/l hydrokortisonu**Doubling time** 35 až 40 hodin**Subculturing** Při subkultivaci sféroidních kultur začněte mechanickou disociací sféroidů pipetováním 5 až 10krát nahoru a dolů pomocí pipety Eppendorf s filtračními špičkami o objemu 1000 µl. Poté směs odstředíte při 300 g po dobu 5 minut při pokojové teplotě, aby se buňky peletovaly. Supernatant zlikvidujte a buněčnou peletu znovu rozpusťte v čerstvém kultivačním médiu. Nakonec přeneste resuspendované buňky do nových kultivačních nádob, abyste podpořili další tvorbu sféroidů. Tento postup zajišťuje účinné rozdělení sféroidů a připravuje je na další růst v novém prostředí**Seeding density** 1 až 2 x 10⁵ buněk/ml**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Post-Thaw Recovery** Nechte buňky po zmrazení alespoň 24 až 48 hodin zotavit.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

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

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCH421K | 300118**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA**Sterility**

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11
D13S317: 8,11
D16S539: 10,11
D5S818: 11,13
D7S820: 10,12
TH01: 6
TPOX: 8,11
vWA: 17,18
D3S1358: 14,16
D21S11: 30
D18S51: 13
Penta E: 7,12
Penta D: 9,13
D8S1179: 12,15
FGA: 21,25

Alely HLA

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