

NCH421K ląstelės | 300118

Bendra informacija

Description

NCH421K yra žmogaus glioblastomos kamieninėms ląstelėms panaši ląstelių linija, gauta iš pirminio glioblastomos naviko, paimto iš suaugusio paciento. Ši ląstelių linija priklauso naviką inicijuojančių ląstelių klasei, kurios išlaiko pagrindines nervinių kamieninių ląstelių savybes, įskaitant savęs atsinaujinimo gebėjimą, daugiapotentiškumą ir gebėjimą atkurti naviko heterogeniškumą. NCH421K ląstelės paprastai auginamos be serumo ir auga kaip neprisitvirtinusi neurosferos, o tai yra kamieninėms ląstelėms būdingas požymis. Jos išreiškia kanoninius kamieninių ląstelių žymeklius, tokius kaip CD133 ir nestin, patvirtindamos jų klasifikaciją kaip glioblastomos kamieninėms ląstelėms panašaus modelio.

NCH421K augimas ir išlikimas labai priklauso nuo bazinio fibroblastų augimo faktoriaus (bFGF), kuris skatina proliferaciją ir kamieninėms ląstelėms būdingų savybių išlaikymą, tuo tarpu epiderminis augimo faktorius (EGF) turi minimalų poveikį jų plitimui. Ląstelės išlaiko aukštą kamieninių ląstelių žymenų ekspresiją esant bFGF stimuliacijai ir demonstruoja gebėjimą formuoti navikus in vivo, pabrėždamos savo tumorigeninį potencialą. Dėl šių savybių NCH421K plačiai naudojama glioblastomos kamieninių ląstelių biologijos, terapinio atsparumo, diferenciacijos strategijų tyrimuose bei tikslinio gydymo, skirto naviką inicijuojančių ląstelių populiacijų išnaikinimui, vertinime.

Šią ląstelių liniją iš glioblastomos audinio sukūrė Christel Herold-Mende.

Organism	Žmogus
Tissue	Smegenys
Disease	Glioblastoma
Synonyms	NCH421k

Charakteristikos

Age	66 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Kaukaziečių
Growth properties	Sferoidų kultūra

Reguliavimo duomenys

Citation	NCH421K (Cytion katalogo numeris 300118)
-----------------	--

NCH421K ląstelės | 300118

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x910**Biomolekuliniai duomenys****Tumorigenic** Taip**Tvarkymas****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS, 5 mg/l heparino, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramų/l EGF, 5 mg/l insulino, 100 mg/l transferino, 5,2 mikrogramo/l Na-selenito, 6,3 mikrogramo/l progesterono, 161,1 mikrogramo/l putrescino, 50 mg/l hidrokortinsono**Doubling time** 35-40 valandų**Subculturing** Sferoidines kultūras subkultūruoti pradėkite mechaniškai išskirdami sferoidus pipete 5-10 kartų aukštyn ir žemyn, naudodami "Eppendorf" pipetę su 1000 µl filtro antgaliais. Po to 5 minutes kambario temperatūroje centrifuguokite mišinį 300 g sukčių dažniu, kad ląstelės būtų išsklaidytos. Išmeskite supernatantą, o ląstelių granules vėl suberkite į šviežią terpę. Galiausiai resuspenduotas ląsteles perkelti į naujus kultūros indus, kad būtų skatinamas tolesnis sferoidų formavimasis. Šis metodas užtikrina veiksmingą sferoidų suskaidymą ir paruošia juos tolesniam augimui naujoje aplinkoje**Seeding density** 1–2 x 10⁵ ląstelių/ml**Fluid renewal** 2-3 kartus per savaitę**Post-Thaw Recovery** Leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bent 24-48 valandas.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NCH421K ląstelės | 300118

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NCH421K ląstelės | 300118

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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