

NCH421K šūnas | 300118

Vispārīga informācija

Description

NCH421K ir cilvēka glioblastomas cilmes šūnu tipa šūnu līnija, kas iegūta no primārā glioblastomas audzēja, kas tika izņemts pieaugušam pacientam. Šī šūnu līnija pieder pie audzēju iniciējošo šūnu klases, kurām ir saglabājušās neironu cilmes šūnu galvenās īpašības, tostarp pašatjaunošanās spēja, daudzpotentums un spēja atainot audzēja heterogenitāti. NCH421K šūnas parasti kultivē bez seruma apstākļos, un tās aug kā neadhezīvas neirosfēras, kas ir cilmes šūnu tipa gliomas kultūru pazīme. Tās ekspresē kanoniskos cilmes šūnu marķierus, piemēram, CD133 un nestīnu, kas apstiprina to klasifikāciju kā glioblastomas cilmes šūnu tipa modeli.

NCH421K augšana un izdzīvošana ir ļoti atkarīga no bāzes fibroblastu augšanas faktora (bFGF), kas veicina proliferāciju un cilmes šūnu līdzīgo īpašību saglabāšanu, savukārt epidermālais augšanas faktors (EGF) to izplatībai ir minimāla ietekme. Šīs šūnas saglabā augstu cilmes šūnu marķieru ekspresiju bFGF stimulācijas ietekmē un demonstrē spēju veidot audzējus in vivo, kas uzsver to tumorogēno potenciālu. Pateicoties šīm īpašībām, NCH421K tiek plaši izmantota pētījumos par glioblastomas cilmes šūnu bioloģiju, rezistenci pret terapiju, diferenciacijas stratēģijām un mērķtiecīgu ārstēšanas metožu novērtēšanu, kuru mērķis ir iznīcināt audzēju iniciējošo šūnu populāciju.

Šo šūnu līniju izveidoja Christel Herold-Mende no glioblastomas audiem.

Organism	Cilvēks
Tissue	Smadzenes
Disease	Glioblastoma
Synonyms	NCH421k

Raksturojums

Age	66 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Growth properties	Sferoīdu kultūra

Normatīvie dati

Citation	NCH421K (Cytion kataloga numurs 300118)
-----------------	---

NCH421K šūnas | 300118

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x910**Biomolekulārie dati****Tumorigenic** Jā**Darbs ar****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS, 5 mg/l heparīna, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramu/l EGF, 5 mg/l insulīna, 100 mg/l transferīna, 5,2 mikrogramu/l Na-selenīta, 6,3 mikrogramu/l progesterona, 161,1 mikrogramu/l putrescīna, 50 mg/l hidrokortīnsona**Doubling time** 35 līdz 40 stundas**Subculturing** Sferoīdu kultūru subkultivēšanu sāciet, mehāniski sadalot sferoīdus ar pipetēm uz augšu un uz leju 5 līdz 10 reizes, izmantojot Eppendorf pipeti ar 1000 µl filtrējošiem uzgaļiem. Pēc tam istabas temperatūrā 5 minūtes centrifugē maisījumu ar 300 g, lai granulētu šūnas. Izmetiet supernatantu un atkārtoti suspendējiet šūnu pelīti svaigā barotnē. Visbeidzot pārvietot resuspendētās šūnas jaunos barotnēs, lai veicinātu sferoīdu veidošanos. Šāda pieeja nodrošina efektīvu sferoīdu sadalīšanos un sagatavo tās turpmākai augšanai jaunā vidē**Seeding density** 1 līdz 2×10^5 šūnas/ml**Fluid renewal** 2 līdz 3 reizes nedēļā**Post-Thaw Recovery** Ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa vismaz 24-48 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

NCH421K šūnas | 300118

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCH421K šūnas | 300118

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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