

Komórki NCH421K | 300118

Informacje ogólne

Description

NCH421K to ludzka linia komórkowa o charakterze podobnym do komórek macierzystych glejaka wielopostaciowego, wyhodowana z pierwotnego guza glejaka wielopostaciowego pobranego od dorosłego pacjenta. Linia ta należy do klasy komórek inicjujących nowotwór, które zachowują kluczowe cechy komórek macierzystych układu nerwowego, w tym zdolność do samoodnawiania się, wielopotencjalność oraz zdolność do odtwarzania heterogeniczności nowotworu. Komórki NCH421K są zazwyczaj hodowane w warunkach bez surowicy i rosną jako nieprzylegające neurosfery, co jest cechą charakterystyczną hodowli komórek glejaka o właściwościach podobnych do komórek macierzystych. Ekspresja kanonicznych markerów komórek macierzystych, takich jak CD133 i nestina, potwierdza ich klasyfikację jako modelu komórek macierzystych glejaka wielopostaciowego.

Wzrost i przeżywalność komórek NCH421K są silnie uzależnione od podstawowego czynnika wzrostu fibroblastów (bFGF), który sprzyja proliferacji i utrzymaniu cech komórek macierzystych, podczas gdy naskórkowy czynnik wzrostu (EGF) ma minimalny wpływ na ich ekspansję. Komórki te utrzymują wysoką ekspresję markerów komórek macierzystych pod wpływem stymulacji bFGF i wykazują zdolność do tworzenia nowotworów in vivo, co podkreśla ich potencjał nowotworowy. Ze względu na te właściwości NCH421K jest szeroko stosowana w badaniach nad biologią komórek macierzystych glejaka wielopostaciowego, opornością na leczenie, strategiami różnicowania oraz w ocenie terapii celowanych mających na celu wyeliminowanie populacji komórek inicjujących nowotwór.

Linia komórkowa została założona przez Christel Herold-Mende z tkanki glejaka wielopostaciowego.

Organism Człowiek

Tissue Mózg

Disease Glejak wielopostaciowy

Synonyms NCH421k

Charakterystyka

Age 66 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Growth properties Kultura sferoidalna

Dane regulacyjne

Komórki NCH421K | 300118

Citation	NCH421K (numer katalogowy Cytion 300118)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x910
Depositor	C. Herold-Mende

Dane biomolekularne

Tumorigenic	Tak
--------------------	-----

Obsługa

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 5 mg/L Heparyny, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L Insuliny, 100 mg/L Transferyny, 5,2 mikrogram/L Na-selenitu, 6,3 mikrogram/L Progesteronu, 161,1 mikrogram/L Putrescyny, 50 mg/L Hydrokortyzonu
Doubling time	35 do 40 godzin
Subculturing	W przypadku subkulturowania kultur sferoidalnych, należy rozpocząć od mechanicznej dysocjacji sferoidów poprzez pipetowanie w górę i w dół od 5 do 10 razy przy użyciu pipety Eppendorf z końcówkami filtrującymi 1000 µl. Następnie odwirować mieszaninę z prędkością 300 g przez 5 minut w temperaturze pokojowej w celu osuszenia komórek. Odrzucić supernatant i ponownie zawiesić osad komórek w świeżym podłożu hodowlanym. Na koniec przenieś ponownie zawieszony komórki do nowych naczyń hodowlanych, aby promować dalsze tworzenie sferoidów. Takie podejście zapewnia skuteczny rozpad sferoid i przygotowuje je do dalszego wzrostu w nowym środowisku
Seeding density	1 do 2 x 10 ⁵ komórek/ml
Fluid renewal	2 do 3 razy w tygodniu
Post-Thaw Recovery	Należy pozwolić komórkom na regenerację po procesie zamrażania przez co najmniej 24 do 48 godzin.

Komórki NCH421K | 300118**Freeze medium**

Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCH421K | 300118**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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

Allele 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