

Células NCH421K | 300118

Informações gerais

Description

A NCH421K é uma linha celular humana semelhante a células estaminais de glioblastoma, derivada de um tumor primário de glioblastoma obtido de um doente adulto. Esta linha celular pertence a uma classe de células iniciadoras de tumores que mantêm características fundamentais das células estaminais neurais, incluindo a capacidade de auto-renovação, a multipotência e a capacidade de reproduzir a heterogeneidade tumoral. As células NCH421K são tipicamente cultivadas em condições sem soro e crescem como neuroesferas não aderentes, uma característica distintiva das culturas de glioma semelhantes a células estaminais. Elas expressam marcadores canônicos de células estaminais, tais como CD133 e nestina, o que corrobora a sua classificação como um modelo semelhante a células estaminais de glioblastoma.

O NCH421K apresenta crescimento e sobrevivência fortemente dependentes do fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF), que promove a proliferação e a manutenção de características semelhantes às das células estaminais, enquanto o fator de crescimento epidérmico (EGF) tem um efeito mínimo na sua expansão. As células mantêm uma elevada expressão de marcadores de células estaminais sob estimulação com bFGF e demonstram a capacidade de formar tumores in vivo, destacando o seu potencial tumorigênico. Devido a estas propriedades, a NCH421K é amplamente utilizada em estudos sobre a biologia das células estaminais do glioblastoma, resistência terapêutica, estratégias de diferenciação e avaliação de tratamentos direcionados destinados a erradicar populações de células iniciadoras de tumores.

Esta linha celular foi estabelecida por Christel Herold-Mende a partir de tecido de glioblastoma.

Organism	Humano
Tissue	Cérebro
Disease	Glioblastoma
Synonyms	NCH421k

Caraterísticas

Age	66 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Growth properties	Cultura de esferóides

Dados regulamentares

Células NCH421K | 300118**Citation** NCH421K (número de catálogo Cytion 300118)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x910**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Suplementar o meio com 10% de FBS, 5 mg/L de heparina, 20 ng/mL de bFGF, 20 microgramas/L de EGF, 5 mg/L de insulina, 100 mg/L de transferrina, 5,2 microgramas/L de Na-selenit, 6,3 microgramas/L de progesterona, 161,1 microgramas/L de putrescina, 50 mg/L de hidrocortisona**Doubling time** 35 a 40 horas**Subculturing** Para subcultura de culturas de esferóides, começar por dissociar mecanicamente os esferóides através de pipetagem para cima e para baixo 5 a 10 vezes utilizando uma pipeta Eppendorf com pontas de filtro de 1000 µl. Depois disso, centrifugar a mistura a 300 g durante 5 minutos à temperatura ambiente para sedimentar as células. Deitar fora o sobrenadante e ressuspender o pellet de células em meio de cultura fresco. Por fim, transferir as células ressuspensas para novos recipientes de cultura para promover a formação de novos esferóides. Esta abordagem assegura uma decomposição eficiente dos esferóides e prepara-os para um crescimento contínuo num novo ambiente**Seeding density** 1 a 2×10^5 células/ml**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Deixar as células recuperarem do processo de congelação durante, pelo menos, 24 a 48 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células NCH421K | 300118

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células NCH421K | 300118

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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