

Bunky NCH421K | 300118**Všeobecné informácie****Description**

NCH421K je ľudská bunková línia podobná kmeňovým bunkám glioblastómu, odvodená z primárneho glioblastómového nádoru odobratého dospelému pacientovi. Táto bunková línia patrí do triedy nádorových iniciujúcich buniek, ktoré si zachovávajú kľúčové vlastnosti neurálnych kmeňových buniek, vrátane schopnosti sebaregenerácie, multipotencie a schopnosti reprodukovať nádorovú heterogenitu. Bunky NCH421K sa zvyčajne kultivujú v bezsérumových podmienkach a rastú ako neadherentné neurosféry, čo je charakteristickým znakom kultúr kmeňových buniek gliómu. Exprimujú kanonické markery kmeňových buniek, ako sú CD133 a nestín, čo potvrdzuje ich klasifikáciu ako modelu kmeňových buniek glioblastómu.

NCH421K vykazuje rast a prežívanie, ktoré sú silne závislé od základného fibroblastového rastového faktoru (bFGF), ktorý podporuje proliferáciu a udržanie kmeňových charakteristík, zatiaľ čo epidermálny rastový faktor (EGF) má minimálny vplyv na jeho expanziu. Bunky si pri stimulácii bFGF zachovávajú vysokú expresiu markerov kmeňových buniek a preukazujú schopnosť tvoriť nádory in vivo, čo zdôrazňuje ich tumorigenický potenciál. Vďaka týmto vlastnostiam sa NCH421K široko používa v štúdiách biológie kmeňových buniek glioblastómu, terapeutickú rezistencie, stratégií diferenciacie a hodnotenia cielených liečebných postupov zameraných na eradikáciu populácií buniek iniciujúcich nádor.

Túto bunkovú líniu založila Christel Herold-Mende z tkaniva glioblastómu.

Organism Ľudské

Tissue Mozog

Disease Glioblastóm

Synonyms NCH421k

Charakteristika

Age 66 rokov

Gender Muži

Ethnicity Kaukazský

Growth properties Sféroïdná kultúra

Regulačné údaje

Citation NCH421K (katalógové číslo Cytion 300118)

Bunky NCH421K | 300118**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x910**Biomolekulárne údaje****Tumorigenic** Áno**Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS, 5 mg/l heparínu, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramov/l EGF, 5 mg/l inzulínu, 100 mg/l transferínu, 5,2 mikrogramu/l Na-selenitu, 6,3 mikrogramu/l progesterónu, 161,1 mikrogramu/l putrescínu, 50 mg/l hydrokortínu**Doubling time** 35 až 40 hodín**Subculturing** Pri subkultivácii sféroidných kultúr začnite mechanickou disociáciou sféroidov pipetovaním hore a dole 5 až 10-krát pomocou pipety Eppendorf s 1000 µl filtračnými špičkami. Potom zmes odstreďujte pri 300 g počas 5 minút pri izbovej teplote, aby sa bunky peletizovali. Supernatant zlikvidujte a pelety buniek znovu rozpustíte v čerstvom kultivačnom médiu. Nakoniec preneste resuspendované bunky do nových kultivačných nádob, aby ste podporili ďalšiu tvorbu sféroidov. Tento postup zabezpečuje účinný rozpad sféroidov a pripravuje ich na ďalší rast v novom prostredí**Seeding density** 1 až 2×10^5 buniek/ml**Fluid renewal** 2 až 3-krát týždenne**Post-Thaw Recovery** Nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazovania aspoň 24 až 48 hodín.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCH421K | 300118

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

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