

Елементи NCH421K | 300118

Загальна інформація

Description

NCH421K — це лінія клітин, схожих на стовбурові, гліобластоми людини, отримана з первинної пухлини гліобластоми, вилученої у дорослого пацієнта. Ця клітинна лінія належить до класу пухлинних ініціаторних клітин, які зберігають ключові ознаки нейральних стовбурових клітин, зокрема здатність до самовідновлення, мультипотентність та здатність відтворювати гетерогенність пухлини. Клітини NCH421K зазвичай культивують у безсироваткових умовах, і вони ростуть у вигляді неадгезивних нейросфер, що є характерною ознакою культивувань гліом, схожих на стовбурові. Вони експресують канонічні маркери стовбурових клітин, такі як CD133 та нестин, що підтверджує їхню класифікацію як моделі, схожої на стовбурові клітини гліобластоми.

NCH421K демонструє ріст і виживання, які сильно залежать від базового фактора росту фібробластів (bFGF), що сприяє проліферації та підтримці стовбуроподібних характеристик, тоді як епідермальний фактор росту (EGF) має мінімальний вплив на їх розширення. Клітини зберігають високу експресію маркерів стовбурових клітин під дією bFGF і демонструють здатність утворювати пухлини *in vivo*, що підкреслює їхній пухлиногенний потенціал. Завдяки цим властивостям NCH421K широко використовується в дослідженнях біології стовбурових клітин гліобластоми, резистентності до терапії, стратегій диференціації та оцінки цільових методів лікування, спрямованих на знищення популяцій клітин-ініціаторів пухлин.

Ця клітинна лінія була створена Крістель Герольд-Менде з тканини гліобластоми.

Organism Людина

Tissue Мозок

Disease Гліобластома

Synonyms NCH421k

Характеристики

Age 66 років

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Growth properties Сфероїдна культура

Нормативні дані

Елементи NCH421K | 300118

Citation	NCH421K (номер за каталогом Cytion 300118)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x910

Біомолекулярні дані

Tumorigenic	Так
--------------------	-----

Обробка

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO ₃ (цит. номер 820400a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 5 мг/л гепарину, 20 нг/мл bFGF, 20 мкг/л EGF, 5 мг/л інсуліну, 100 мг/л трансферину, 5,2 мкг/л Na-селеніту, 6,3 мкг/л прогестерону, 161,1 мкг/л путресцину, 50 мг/л гідрокортизону
Doubling time	35-40 годин
Subculturing	Для субкультивування культур сфероїдів почніть з механічної дисоціації сфероїдів шляхом піпетування вгору і вниз 5-10 разів за допомогою піпетки Еппендорфа з фільтрувальними насадками на 1000 мкл. Після цього центрифугуйте суміш при 300g протягом 5 хвилин при кімнатній температурі, щоб осадити клітини. Відкиньте надосадову рідину і ресуспендуйте осад клітин у свіжому живильному середовищі. Нарешті, перенесіть ресуспендовані клітини в нові культуральне середовище, щоб сприяти подальшому утворенню сфероїдів. Цей підхід забезпечує ефективне розщеплення сфероїдів і готує їх до подальшого росту в новому середовищі
Seeding density	1 до 2 x 10 ⁵ клітин/мл
Fluid renewal	2-3 рази на тиждень
Post-Thaw Recovery	Будь ласка, дайте клітинам відновитися після процесу заморожування принаймні 24-48 годин.
Freeze medium	Як середовище криоконсервування ми використовуємо 50% базальне середовище + 40% FBS + 10% ДМСО або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для покращення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Елементи NCH421K | 300118

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Елементи NCH421K | 300118

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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