

NCH421K-Zellen | 300118

Allgemeine Informationen

Description

NCH421K ist eine humane glioblastomstammzellähnliche Zelllinie, die aus einem primären Glioblastom-Tumor eines erwachsenen Patienten gewonnen wurde. Diese Zelllinie gehört zu einer Klasse von tumorinitiierenden Zellen, die wesentliche Merkmale neuraler Stammzellen bewahren, darunter die Fähigkeit zur Selbsterneuerung, Multipotenz und die Fähigkeit, die Heterogenität des Tumors nachzubilden. NCH421K-Zellen werden typischerweise unter serumfreien Bedingungen kultiviert und wachsen als nicht-adhärenente Neurosphären, ein Kennzeichen von stammzellähnlichen Gliomkulturen. Sie exprimieren kanonische Stammzellmarker wie CD133 und Nestin, was ihre Einstufung als glioblastomstammzellähnliches Modell untermauert.

Das Wachstum und Überleben von NCH421K-Zellen ist stark vom basischen Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF) abhängig, der die Proliferation und die Aufrechterhaltung stammzellähnlicher Eigenschaften fördert, während der epidermale Wachstumsfaktor (EGF) nur einen minimalen Einfluss auf ihre Vermehrung hat. Die Zellen behalten unter bFGF-Stimulation eine hohe Expression von Stammzellmarkern bei und zeigen die Fähigkeit, in vivo Tumore zu bilden, was ihr tumorigenes Potenzial unterstreicht. Aufgrund dieser Eigenschaften wird NCH421K häufig in Studien zur Biologie von Glioblastom-Stammzellen, zur Therapieresistenz, zu Differenzierungsstrategien und zur Bewertung gezielter Behandlungen zur Ausrottung tumorinitiierender Zellpopulationen eingesetzt.

Diese Zelllinie wurde von Christel Herold-Mende aus Glioblastomgewebe etabliert.

Organism Menschen

Tissue Gehirn

Disease Glioblastom

Synonyms NCH421k

Merkmale

Age 66 Jahre

Gender Männlich

Ethnicity Kaukasisch

Growth properties Sphäroid-Kultur

Regulatorische Daten

NCH421K-Zellen | 300118

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

Biomolekulare Daten

Tumorigenic	Ja
--------------------	----

Handhabung

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 5 mg/L Heparin, 20 ng/mL bFGF, 20 Mikrogramm/L EGF, 5 mg/L Insulin, 100 mg/L Transferrin, 5,2 Mikrogramm/L Na-Selenit, 6,3 Mikrogramm/L Progesteron, 161,1 Mikrogramm/L Putrescin, 50 mg/L Hydrocortison
Doubling time	35 bis 40 Stunden
Subculturing	Für die Subkultivierung von Sphäroidkulturen werden die Sphäroide zunächst mechanisch durch 5- bis 10-maliges Auf- und Abpipettieren mit einer Eppendorf-Pipette mit 1000-µl-Filterspitzen dissoziiert. Danach zentrifugieren Sie die Mischung bei 300 g für 5 Minuten bei Raumtemperatur, um die Zellen zu pelletieren. Den Überstand verwerfen und das Zellpellet in frischem Kulturmedium resuspendieren. Schließlich überführen Sie die resuspendierten Zellen in neue Kulturgefäße, um die weitere Sphäroidbildung zu fördern. Diese Vorgehensweise gewährleistet einen effizienten Abbau der Sphäroide und bereitet sie auf ein weiteres Wachstum in einer neuen Umgebung vor
Seeding density	1 bis 2 x 10 ⁵ Zellen/ml
Fluid renewal	2 bis 3 Mal pro Woche
Post-Thaw Recovery	Bitte lassen Sie die Zellen sich mindestens 24 bis 48 Stunden lang vom Einfrieren erholen.

NCH421K-Zellen | 300118

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir 50 % Basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO oder CM-1 (Cytion-Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektiva und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und den kryoinduzierten Stress zu verringern.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

NCH421K-Zellen | 300118

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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

HLA-Allele

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