

Cellule NCH421K | 300118**Informazioni generali****Description**

NCH421K è una linea cellulare umana simile alle cellule staminali del glioblastoma, derivata da un tumore primario di glioblastoma prelevato da un paziente adulto. Questa linea cellulare appartiene a una classe di cellule tumorali iniciatrici che conservano caratteristiche chiave delle cellule staminali neurali, tra cui la capacità di auto-rinnovamento, la multipotenza e la capacità di riprodurre l'eterogeneità tumorale. Le cellule NCH421K vengono tipicamente coltivate in condizioni prive di siero e crescono come neurosfere non aderenti, una caratteristica distintiva delle colture di glioma simili alle cellule staminali. Esse esprimono marcatori canonici delle cellule staminali come CD133 e nestina, a sostegno della loro classificazione come modello simile alle cellule staminali del glioblastoma.

NCH421K mostra una crescita e una sopravvivenza fortemente dipendenti dal fattore di crescita fibroblastico basico (bFGF), che promuove la proliferazione e il mantenimento delle caratteristiche simili a quelle delle cellule staminali, mentre il fattore di crescita epidermico (EGF) ha un effetto minimo sulla sua espansione. Le cellule mantengono un'elevata espressione dei marcatori delle cellule staminali sotto stimolazione con bFGF e dimostrano la capacità di formare tumori in vivo, evidenziando il loro potenziale tumorigenico. Grazie a queste proprietà, NCH421K è ampiamente utilizzata negli studi sulla biologia delle cellule staminali del glioblastoma, sulla resistenza terapeutica, sulle strategie di differenziazione e sulla valutazione di trattamenti mirati volti a eradicare le popolazioni di cellule tumorali iniziali.

Questa linea cellulare è stata creata da Christel Herold-Mende a partire da tessuto di glioblastoma.

Organism Umano

Tissue Cervello

Disease Glioblastoma

Synonyms NCH421k

Caratteristiche

Age 66 anni

Gender Uomo

Ethnicity Caucasico

Growth properties Coltura di sferoidi

Dati normativi

Cellule NCH421K | 300118

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

Dati biomolecolari

Tumorigenic	Sì
--------------------	----

Manipolazione

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 5 mg/L di eparina, 20 ng/mL di bFGF, 20 microgrammi/L di EGF, 5 mg/L di insulina, 100 mg/L di transferrina, 5,2 microgrammi/L di Na-selenit, 6,3 microgrammi/L di progesterone, 161,1 microgrammi/L di putrescina, 50 mg/L di idrocortisone
Doubling time	da 35 a 40 ore
Subculturing	Per la subcoltura delle colture di sferoidi, iniziare a dissociare meccanicamente gli sferoidi pipettando su e giù da 5 a 10 volte utilizzando una pipetta Eppendorf con punte filtranti da 1000 µl. Successivamente, centrifugare la miscela a 300g per 5 minuti a temperatura ambiente per pellettizzare le cellule. Scartare il surnatante e risospesare il pellet di cellule in terreno di coltura fresco. Infine, trasferire le cellule risospese in nuovi recipienti di coltura per promuovere l'ulteriore formazione di sferoidi. Questo approccio assicura un'efficiente disgregazione degli sferoidi e li prepara per una crescita continua in un nuovo ambiente
Seeding density	Da 1 a 2 x 10 ⁵ cellule/ml
Fluid renewal	da 2 a 3 volte alla settimana
Post-Thaw Recovery	Lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento per almeno 24-48 ore.
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo 50% di terreno basale + 40% di FBS + 10% di DMSO, o CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress criodotto.

Cellule NCH421K | 300118

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule NCH421K | 300118

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Alleli 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