

NCH421K Cellen | 300118

Algemene informatie

Description

NCH421K is een menselijke glioblastoom-stamcelachtige cellijn die is afgeleid van een primaire glioblastoomtumor afkomstig van een volwassen patiënt. Deze cellijn behoort tot een klasse van tumorinitiërende cellen die belangrijke kenmerken van neurale stamcellen behouden, waaronder het vermogen tot zelfvernieuwing, multipotentie en het vermogen om de heterogeniteit van de tumor na te bootsen. NCH421K-cellen worden doorgaans gekweekt onder serumvrije omstandigheden en groeien als niet-hechtende neurosferen, een kenmerk van stamcelachtige glioomculturen. Ze brengen canonieke stamcelmarkers tot expressie, zoals CD133 en nestine, wat hun classificatie als een glioblastoom-stamcelachtig model ondersteunt.

De groei en overleving van NCH421K zijn sterk afhankelijk van basische fibroblastgroefactor (bFGF), die de proliferatie en het behoud van stamcelachtige kenmerken bevordert, terwijl epidermale groefactor (EGF) een minimaal effect heeft op de expansie ervan. De cellen behouden een hoge expressie van stamcelmarkers onder bFGF-stimulatie en tonen het vermogen om in vivo tumoren te vormen, wat hun tumorogene potentieel benadrukt. Vanwege deze eigenschappen wordt NCH421K op grote schaal gebruikt in studies naar de biologie van glioblastoomstamcellen, therapeutische resistentie, differentiatie strategieën en de evaluatie van gerichte behandelingen gericht op het uitroeien van tumorinitiërende celpopulaties.

Deze cellijn is door Christel Herold-Mende opgezet uit glioblastoomweefsel.

Organism	Mens
Tissue	Hersenen
Disease	Glioblastoom
Synonyms	NCH421k

Kenmerken

Age	66 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Growth properties	Sferoïdecultuur

Regelgevende gegevens

Citation	NCH421K (Cytion catalogusnummer 300118)
-----------------	---

NCH421K Cellen | 300118**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x910**Depositor** C. Herold-Mende**Biomoleculaire gegevens****Tumorigenic** Ja**Omgaan met****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 5 mg/L heparine, 20 ng/mL bFGF, 20 microgram/L EGF, 5 mg/L insuline, 100 mg/L transferrine, 5,2 microgram/L Na-selenit, 6,3 microgram/L progesteron, 161,1 microgram/L putrescine, 50 mg/L hydrocortison**Doubling time** 35 tot 40 uur**Subculturing** Voor subcultuur sferoïde culturen, beginnen met het mechanisch scheiden van de sferoïden door pipetteren op en neer 5 tot 10 keer met behulp van een Eppendorf pipet met 1000 ul filtertips. Hierna centrifugeer je het mengsel bij 300g gedurende 5 minuten bij kamertemperatuur om de cellen te pelletteren. Gooi het supernatant weg en resuspendeer de celpellet in vers kweekmedium. Breng ten slotte de geresuspendeerde cellen over in nieuwe kweekvaten om verdere sferoïdvorming te bevorderen. Deze aanpak zorgt voor een efficiënte afbraak van de sferoïden en maakt ze klaar voor verdere groei in een nieuwe omgeving**Seeding density** 1 tot 2×10^5 cellen/ml**Fluid renewal** 2 tot 3 keer per week**Post-Thaw Recovery** Laat de cellen minstens 24 tot 48 uur bijkomen van het invriesproces.**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we 50% basaal medium + 40% FBS + 10% DMSO, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en cryogeïnduceerde stress te verminderen.

NCH421K Cellen | 300118

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NCH421K Cellen | 300118

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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-allelen

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