

NCH421K-celler | 300118

Generell informasjon

Description

NCH421K er en menneskelig glioblastom-stamcellelignende cellelinje avledet fra en primær glioblastomtumor hentet fra en voksen pasient. Denne cellelinjen tilhører en klasse av tumorinitierende celler som beholder sentrale egenskaper ved nevrale stamceller, herunder evnen til selvfornyelse, multipotens og evnen til å gjenskape tumorheterogenitet. NCH421K-celler dyrkes vanligvis under serumfrie forhold og vokser som ikke-adherente nevrosfærer, et kjennetegn ved stamcellelignende gliomkulturer. De uttrykker kanoniske stamcellemarkører som CD133 og nestin, noe som støtter klassifiseringen av dem som en glioblastom-stamcellelignende modell.

NCH421K viser vekst og overlevelse som er sterkt avhengig av basisk fibroblastvekstfaktor (bFGF), som fremmer proliferasjon og opprettholdelse av stamcellelignende egenskaper, mens epidermal vekstfaktor (EGF) har minimal effekt på ekspansjonen. Cellene opprettholder høy ekspresjon av stamcellemarkører under bFGF-stimulering og viser evne til å danne svulster in vivo, noe som understreker deres tumorigeniske potensial. På grunn av disse egenskapene er NCH421K mye brukt i studier av glioblastom-stamcellebiologi, terapeutisk resistens, differensieringsstrategier og evaluering av målrettede behandlinger rettet mot å utrydde tumorinitierende cellepopulasjoner.

Denne cellelinjen ble etablert av Christel Herold-Mende fra glioblastomvev.

Organism Menneskelig

Tissue Hjerne

Disease Glioblastom

Synonyms NCH421k

Kjennetegn

Age 66 år

Gender Mann

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Sfæroid kultur

Regulatoriske data

Citation NCH421K (Cytion-katalognummer 300118)

NCH421K-celler | 300118

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x910**Depositor** C. Herold-Mende**Biomolekylære data****Tumorigenic** Ja**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)**Supplements** Suppler med 10 % FBS, 5 mg/L heparin, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L insulin, 100 mg/L transferrin, 5,2 mikrogram/L Na-selenit, 6,3 mikrogram/L progesteron, 161,1 mikrogram/L putrescin, 50 mg/L hydrocortison**Doubling time** 35 til 40 timer**Subculturing** For subkulturer av sfæroidkulturer begynner du med å dissosiere sfæroidene mekanisk ved å pipettere opp og ned 5 til 10 ganger med en Eppendorf-pipette med 1000 µl filterspisser. Deretter sentrifugeres blandingen ved 300 g i 5 minutter ved romtemperatur for å pellete cellene. Kast supernatanten, og resuspender cellepelletten i nytt dyrkingsmedium. Overfør til slutt de resuspenderte cellene til nye dyrkningsbeholdere for å fremme ytterligere sfæroiddannelse. Denne fremgangsmåten sikrer effektiv nedbrytning av sfæroidene og gjør dem klare for fortsatt vekst i et nytt miljø**Seeding density** 1 til 2 x 10⁵ celler/ml**Fluid renewal** 2 til 3 ganger per uke**Post-Thaw Recovery** La cellene restituere seg fra fryseprosessen i minst 24 til 48 timer.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

NCH421K-celler | 300118

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCH421K-celler | 300118

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

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-alleler

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