

NCH421K-celler | 300118

Allmän information

Description

NCH421K är en mänsklig glioblastomcellinje med stamcellsliknande egenskaper, härledd från en primär glioblastomtumor som erhållits från en vuxen patient. Denna cellinje tillhör en klass av tumörinitierande celler som behåller viktiga egenskaper hos neurala stamceller, däribland förmågan till självförnyelse, multipotens och förmågan att återskapa tumörens heterogenitet. NCH421K-celler odlas vanligtvis under serumfria förhållanden och växer som icke-vidhäftande neurosfärer, vilket är ett kännetecken för stamcellsliknande gliomkulturer. De uttrycker kanoniska stamcellsmarkörer såsom CD133 och nestin, vilket stöder deras klassificering som en glioblastomstamcellsliknande modell.

NCH421K uppvisar tillväxt och överlevnad som är starkt beroende av basisk fibroblasttillväxtfaktor (bFGF), vilket främjar proliferation och upprätthållande av stamcellsliknande egenskaper, medan epidermal tillväxtfaktor (EGF) har minimal effekt på dess expansion. Cellerna upprätthåller hög uttryck av stamcellsmarkörer under bFGF-stimulering och visar förmåga att bilda tumörer in vivo, vilket understryker deras tumörbildande potential. På grund av dessa egenskaper används NCH421K i stor utsträckning i studier av glioblastomstamcellsbiologi, terapeutisk resistens, differentieringsstrategier och utvärdering av riktade behandlingar som syftar till att utrota tumörinitierande cellpopulationer.

Denna cellinje etablerades av Christel Herold-Mende från glioblastomvävnad.

Organism Människan

Tissue Hjärna

Disease Glioblastom

Synonyms NCH421k

Egenskaper

Age 66 år

Gender Man

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Sfäroidkultur

Lagstadgade uppgifter

Citation NCH421K (Cytion katalognummer 300118)

NCH421K-celler | 300118

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x910**Depositor** C. Herold-Mende**Biomolekylära data****Tumorigenic** Ja**Hantering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Komplettera 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 till 40 timmar**Subculturing** För subkultur av sfäroidkulturer börjar man med att mekaniskt dissociera sfäroiderna genom att pipettera upp och ner 5-10 gånger med en Eppendorf-pipett med 1000 µl filterspetsar. Centrifugera därefter blandningen vid 300 g i 5 minuter vid rumstemperatur för att pelletera cellerna. Kassera supernatanten och resuspendera cellpelleten i färskt odlingsmedium. Överför slutligen de resuspenderade cellerna till nya odlingskärl för att främja ytterligare sfäroidbildning. Detta tillvägagångssätt säkerställer en effektiv nedbrytning av sfäroiderna och gör dem redo för fortsatt tillväxt i en ny miljö**Seeding density** 1 till 2×10^5 celler/ml**Fluid renewal** 2 till 3 gånger per vecka**Post-Thaw Recovery** Låt cellerna återhämta sig från frysningsprocessen i minst 24 till 48 timmar.**Freeze medium** Som kryokonserveringsmedium använder vi 50% basalt medium + 40% FBS + 10% DMSO, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

NCH421K-celler | 300118

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NCH421K-celler | 300118

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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