

Células NCH644 | 300124**Información general****Description**

La línea celular NCH644 es una línea celular similar a las células madre del glioblastoma derivada de tumores de pacientes que carecen de amplificación del EGFR, lo que la convierte en un modelo valioso para estudiar la biología del glioblastoma, especialmente en el contexto de la señalización del factor de crecimiento y las propiedades de las células madre. Los estudios han demostrado que, en las células NCH644, el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) desempeña un papel importante en la mediación del crecimiento y el mantenimiento de las características de las células madre, mientras que el factor de crecimiento epidérmico (EGF) no muestra efectos similares. Las células NCH644 responden al bFGF aumentando la expresión de marcadores de células madre como CD133 y nestina, y también muestran una mayor resistencia a la apoptosis. Esta resistencia, unida a la ausencia de amplificación del EGFR, convierte a las células NCH644 en un modelo adecuado para comprender el comportamiento de las células madre del glioblastoma, especialmente en diferentes condiciones de factores de crecimiento.

Otra característica notable de NCH644 es su menor tasa de proliferación en comparación con otras líneas celulares de glioblastoma stem-like, como NCH421k. Sin embargo, cuando se estimulan con bFGF, las células NCH644 muestran un aumento de la expresión de EGFR, incluso en ausencia de amplificación de EGFR, lo que pone de relieve la interacción entre los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR) y las vías de señalización de EGFR. Además, el bFGF desempeña un papel en el aumento de la clonogenicidad y la multipotencia de las células NCH644, lo que apoya aún más la idea de que el bFGF es crucial para mantener las propiedades de estas células como células madre de glioma.

También se ha demostrado que las células NCH644 albergan subpoblaciones de ciclo lento que retienen marcadores y presentan una mayor tumorigenicidad y resistencia a tratamientos como la irradiación y la temozolomida. Esta subpoblación de células con retención de marcaje dentro de la línea NCH644 es altamente tumorigénica, capaz de formar tumores en ratones inmunodeprimidos incluso con un número reducido de células. Estas características, combinadas con su resistencia a los tratamientos estándar, hacen de NCH644 una herramienta fundamental para investigar estrategias terapéuticas dirigidas a las células madre del glioblastoma.

Organism Humano**Tissue** Cerebro**Disease** Glioblastoma**Características****Age** 66 años**Gender** Mujer**Ethnicity** Caucásico

Células NCH644 | 300124

Growth properties Cultivo de esferoides

Datos reglamentarios

Citation NCH644 (número de catálogo 300124 de Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x914

Depositor C. Herold-Mende

Datos biomoleculares

Antigen expression Altamente positivo para CD133

Tumorigenic Sí

Ploidy status Aneuploide

Manejo de

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L de glucosa, w: 2,5 mM de L-glutamina, w: 15 mM de HEPES, w: 0,5 mM de piruvato sódico, w: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820400a)

Supplements Suplementar el medio con 10% FBS, 5 mg/L de Heparina, 20 ng/mL de bFGF, 20 microgramos/L de EGF, 5 mg/L de Insulina, 100 mg/L de Transferrina, 5,2 microgramos/L de Na-selenit, 6,3 microgramos/L de Progesteron, 161,1 microgramos/L de Putrescina, 50 mg/L de Hidrocortison

Subculturing Para subcultivar los cultivos de esferoides, empiece disociando mecánicamente los esferoides pipeteando arriba y abajo de 5 a 10 veces con una pipeta Eppendorf con puntas de filtro de 1000 µl. A continuación, centrifugar la mezcla a 300 g durante 5 minutos a temperatura ambiente para separar las células. Desechar el sobrenadante y resuspender el sedimento celular en medio de cultivo fresco. Por último, transfiera las células resuspendidas a nuevos recipientes de cultivo para promover la formación de nuevos esferoides. Este método garantiza la descomposición eficaz de los esferoides y los prepara para seguir creciendo en un nuevo entorno

Split ratio Se recomienda una proporción de 1:2 a 1:5

Células NCH644 | 300124**Seeding density** 2 x 10⁵ células/ml**Fluid renewal** de 2 a 3 veces por semana**Post-Thaw Recovery** Tras la descongelación, deje que las células se recuperen del proceso de congelación durante al menos 24 a 48 horas.**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos 50% de medio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmósfera humidificada.

Células NCH644 | 300124

Flask Coating Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de STR

CSF1PO: 12
D13S317: 10,13
D16S539: 12,13
D5S818: 9,10
D7S820: 12,13
TH01: 6,7
TPOX: 8,11
vWA: 15,19
PEZ6: B-LCL-CDG4