

## Cellules NCH644 | 300124

## Informations générales

## Description

La lignée cellulaire NCH644 est une lignée de cellules souches de glioblastome dérivée de tumeurs de patients qui ne présentent pas d'amplification de l'EGFR, ce qui en fait un modèle précieux pour l'étude de la biologie du glioblastome, en particulier dans le contexte de la signalisation des facteurs de croissance et des propriétés des cellules souches. Des études ont démontré que dans les cellules NCH644, le facteur de croissance basique des fibroblastes (bFGF) joue un rôle important dans la médiation de la croissance et le maintien des caractéristiques des cellules souches, alors que le facteur de croissance épidermique (EGF) n'a pas d'effets similaires. Les cellules NCH644 répondent au bFGF en augmentant l'expression des marqueurs de cellules souches tels que CD133 et nestin, et elles présentent également une résistance accrue à l'apoptose. Cette résistance, associée à l'absence d'amplification de l'EGFR, fait de NCH644 un modèle approprié pour comprendre le comportement des cellules souches de glioblastome, en particulier dans différentes conditions de facteurs de croissance.

Une autre caractéristique notable de NCH644 est son taux de prolifération plus lent que celui d'autres lignées de cellules souches de glioblastome, telles que NCH421k. Cependant, lorsqu'elles sont stimulées par le bFGF, les cellules NCH644 montrent une expression accrue de l'EGFR, même en l'absence d'amplification de l'EGFR, ce qui met en évidence l'interaction entre les récepteurs du facteur de croissance des fibroblastes (FGFR) et les voies de signalisation de l'EGFR. En outre, le bFGF joue un rôle dans l'augmentation de la clonogénicité et de la multipotence des cellules NCH644, ce qui renforce l'idée que le bFGF est crucial pour le maintien des propriétés de ces cellules en tant que souches de gliome.

Il a également été démontré que les cellules NCH644 abritent des sous-populations à cycle lent qui retiennent l'étiquette et qui présentent une tumorigénicité accrue et une résistance à des traitements tels que l'irradiation et le témozolomide. Cette sous-population de cellules retenant l'étiquette au sein de la lignée NCH644 est hautement tumorigène, capable de former des tumeurs chez des souris immunodéprimées, même avec un petit nombre de cellules. Ces caractéristiques, combinées à leur résistance aux traitements standard, font de NCH644 un outil essentiel pour l'étude des stratégies thérapeutiques ciblant les cellules souches du glioblastome.

**Organism** Humain

**Tissue** Cerveau

**Disease** Glioblastome

## Caractéristiques

**Age** 66 ans

**Gender** Femme

**Ethnicity** Caucasien

**Growth properties** Culture de sphéroïdes

## Cellules NCH644 | 300124

## Données réglementaires

<b>Citation</b>	NCH644 (numéro de catalogue Cytion 300124)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_x914
<b>Depositor</b>	C. Herold-Mende

## Données biomoléculaires

<b>Antigen expression</b>	Hautement CD133 positif
<b>Tumorigenic</b>	Oui
<b>Ploidy status</b>	Aneuploïde

## Manipulation

<b>Culture Medium</b>	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 Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (numéro d'article Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Compléter le milieu avec 10% de FBS, 5 mg/L d'héparine, 20 ng/mL de bFGF, 20 microgrammes/L d'EGF, 5 mg/L d'insuline, 100 mg/L de transferrine, 5,2 microgrammes/L de Na-sélénite, 6,3 microgrammes/L de progestérone, 161,1 microgrammes/L de putrescine, 50 mg/L d'hydrocortison, 5,2 microgrammes/L de Na-sélénite, 6,3 microgrammes/L de progestérone
<b>Subculturing</b>	Pour la sous-culture des cultures sphéroïdes, commencez par dissocier mécaniquement les sphéroïdes par pipetage de haut en bas 5 à 10 fois à l'aide d'une pipette Eppendorf avec des embouts filtrants de 1000 µl. Après cela, centrifuger le mélange à 300g pendant 5 minutes à température ambiante pour culotter les cellules. Jeter le surnageant et remettre en suspension le culot cellulaire dans un milieu de culture frais. Enfin, transférer les cellules remises en suspension dans de nouveaux récipients de culture pour favoriser la formation de sphéroïdes. Cette approche garantit une décomposition efficace des sphéroïdes et les prépare à poursuivre leur croissance dans un nouvel environnement
<b>Split ratio</b>	Un rapport de 1:2 à 1:5 est recommandé

## Cellules NCH644 | 300124

**Seeding density** 2 x 10<sup>5</sup> cellules/ml

**Fluid renewal** 2 à 3 fois par semaine

**Post-Thaw Recovery** Après décongélation, laisser les cellules se remettre du processus de congélation pendant au moins 24 à 48 heures.

**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons 50 % de milieu basal + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui contient des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

## Cellules NCH644 | 300124

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosphère humidifiée.

**Flask Coating** Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

**Freezing Procedure** Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Shipping Conditions** Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Storage Conditions** Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

## Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

**Sterility** La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

**Profil 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