

## NCH690-celler | 300120

## Generell informasjon

## Description

NCH640-cellelinjen er en glioblastom-stamcellelignende modell som brukes i forskning for å utforske mekanismene bak tumorresistens, cellulær overlevelse under stress og terapeutisk respons. Glioblastom, en av de mest aggressive formene for hjernesvulst, er vanskelig å behandle på grunn av sin resistens mot behandling og tilpasning til et fiendtlig mikromiljø. NCH640 dyrkes i spesialiserte medier som Neurobasal A med tilskudd som B27, og veksten støttes av essensielle vekstfaktorer som EGF og FGF-2. Den brukes ofte sammen med andre gliomstamcellemodeller, som NCH690 og NCH644, for å undersøke disse biologiske fenomenene.

Forskningen på NCH640 fokuserer i stor grad på dens resistensmekanismer, særlig under hypoksiske forhold. Gliomceller som NCH640 er i stor grad avhengige av metabolske tilpasninger, inkludert endret regulering av reaktive oksygenarter (ROS). Studier har vist at ved å påvirke signalveier som den integrerte stressresponsen (ISR) i NCH640 og beslektede cellelinjer, kan cellene bli mer følsomme for behandlinger som temozolomid, som ofte brukes i behandling av glioblastom. Disse funnene er viktige for å utvikle nye strategier for å overvinne gliomstamcellelignende cellers iboende resistens mot standardbehandlinger.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Hjerne

**Disease** Glioblastom

## Kjennetegn

**Age** 78 år

**Gender** Kvinne

**Ethnicity** Kaukasisk

**Growth properties** Sfæroid kultur, delvis adherent

## Regulatoriske data

**Citation** NCH690 (Cytion-katalognummer 300120)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_x915

## NCH690-celler | 300120

<b>Depositor</b>	C. Herold-Mende
------------------	-----------------

**Biomolekylære data**

<b>Tumorigenic</b>	Ja
--------------------	----

**Håndtering**

<b>Culture Medium</b>	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 NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820400a)
-----------------------	---

<b>Supplements</b>	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
--------------------	--

<b>Subculturing</b>	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 pelletere cellene. Kast supernatanten, og resuspender cellepelleten 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
---------------------	--

<b>Split ratio</b>	Et forhold på 1:2 til 1:5 anbefales i henhold til vekstraten
--------------------	--

<b>Seeding density</b>	1 x 10 <sup>5</sup> celler/ml
------------------------	-------------------------------

<b>Fluid renewal</b>	2 til 3 ganger per uke
----------------------	------------------------

<b>Post-Thaw Recovery</b>	Etter tining skal cellene få komme seg etter fryseprosessen i minst 24 til 48 timer.
---------------------------	--

<b>Freeze medium</b>	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 kryoundusert stress.
----------------------	--

## NCH690-celler | 300120

### 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 %  $\text{CO}_2$ , 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.

## NCH690-celler | 300120

### 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

**CSF1PO:** 10,11  
**D13S317:** 10,13  
**D16S539:** 9,12  
**D5S818:** 11,12  
**D7S820:** 8,9  
**TH01:** 9,9.3  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 18  
**D3S1358:** 14,17  
**D21S11:** 29,32  
**D18S51:** 17  
**Penta E:** 12,20  
**Penta D:** 10,12  
**D8S1179:** 11,14  
**FGA:** 22,24

### HLA-alleler

**A\*:** '03:01:01, '68:01:02  
**B\*:** '35:01:01, '47:01:01  
**C\*:** '04:01:01, '06:02:01  
**DRB1\*:** '07:01:01, '16:02:01  
**DQA1\*:** '01:02:02, '02:01:01  
**DQB1\*:** '02:02:01, '05:02:01  
**DPB1\*:** '04:01:01G, '04:02:01G  
**E:** '01:01:01