

**Células NCH690 | 300120****Informações gerais****Description**

A linha celular NCH640 é um modelo de células estaminais de glioblastoma utilizado na investigação para explorar os mecanismos de resistência tumoral, a sobrevivência celular sob stress e as respostas terapêuticas. O glioblastoma, uma das formas mais agressivas de tumores cerebrais, é difícil de tratar devido à sua resistência à terapia e à adaptação a um microambiente hostil. O NCH640 é cultivado em meios especializados como o Neurobasal A com suplementos como o B27, e o seu crescimento é apoiado por factores de crescimento essenciais como o EGF e o FGF-2. É frequentemente utilizado juntamente com outros modelos de células estaminais de glioma, como o NCH690 e o NCH644, para investigar estes fenómenos biológicos.

A investigação sobre a NCH640 centra-se fortemente nos seus mecanismos de resistência, nomeadamente em condições de hipoxia. As células de glioma como o NCH640 apresentam uma dependência significativa das adaptações metabólicas, incluindo a regulação alterada das espécies reactivas de oxigénio (ROS). Os estudos demonstraram que a seleção de vias como a resposta integrada ao stress (ISR) no NCH640 e em linhas celulares relacionadas pode melhorar a sua sensibilidade a terapias como a temozolomida, que é habitualmente utilizada no tratamento do glioblastoma. Estas descobertas são importantes para a conceção de novas estratégias destinadas a ultrapassar a resistência inerente das células estaminais do glioma às intervenções terapêuticas habituais.

**Organism** Humano**Tissue** Cérebro**Disease** Glioblastoma**Caraterísticas****Age** 78 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Cultura esferoide, parcialmente aderente**Dados regulamentares****Citation** NCH690 (número de catálogo Cytion 300120)**Biosafety level** 1

**Células NCH690 | 300120****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_x915**Dados biomoleculares****Tumorigenic** Sim**Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Suplementar o meio com 10% de FBS, 5 mg/L de heparina, 20 ng/mL de bFGF, 20 microgramas/L de EGF, 5 mg/L de insulina, 100 mg/L de transferrina, 5,2 microgramas/L de Na-selenit, 6,3 microgramas/L de progesterona, 161,1 microgramas/L de putrescina, 50 mg/L de hidrocortisona**Subculturing** Para subcultura de culturas de esferóides, começar por dissociar mecanicamente os esferóides através de pipetagem para cima e para baixo 5 a 10 vezes utilizando uma pipeta Eppendorf com pontas de filtro de 1000 µl. Depois disso, centrifugar a mistura a 300 g durante 5 minutos à temperatura ambiente para sedimentar as células. Deitar fora o sobrenadante e ressuspender o pellet de células em meio de cultura fresco. Por fim, transferir as células ressuspensas para novos recipientes de cultura para promover a formação de novos esferóides. Esta abordagem assegura uma decomposição eficiente dos esferóides e prepara-os para um crescimento contínuo num novo ambiente**Seeding density** 1 x 10<sup>5</sup> células/mL**Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana**Post-Thaw Recovery** Após a descongelação, deixar as células recuperarem do processo de congelação durante, pelo menos, 24 a 48 horas.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

## Células NCH690 | 300120

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células NCH690 | 300120

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

### Alelos HLA

**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