

Células NCH644 | 300124**Informações gerais****Description**

A linha celular NCH644 é uma linha celular semelhante à célula estaminal do glioblastoma, derivada de tumores de doentes sem amplificação do EGFR, o que a torna um modelo valioso para o estudo da biologia do glioblastoma, especialmente no contexto da sinalização do fator de crescimento e das propriedades das células estaminais. Estudos demonstraram que, nas células NCH644, o fator básico de crescimento dos fibroblastos (bFGF) desempenha um papel significativo na mediação do crescimento e na manutenção das características das células estaminais, ao passo que o fator de crescimento epidérmico (EGF) não apresenta efeitos semelhantes. As células NCH644 respondem ao bFGF aumentando a expressão de marcadores de células estaminais, como o CD133 e a nestina, e também apresentam uma maior resistência à apoptose. Esta resistência, aliada à ausência de amplificação do EGFR, faz das células NCH644 um modelo adequado para compreender o comportamento das células estaminais do glioblastoma, em particular sob diferentes condições de factores de crescimento.

Outra característica notável da NCH644 é a sua taxa de proliferação mais lenta quando comparada com outras linhas celulares semelhantes a células estaminais de glioblastoma, como a NCH421k. No entanto, quando estimuladas por bFGF, as células NCH644 apresentam um aumento da expressão de EGFR, mesmo na ausência de amplificação do EGFR, o que evidencia a interação entre os receptores do fator de crescimento dos fibroblastos (FGFRs) e as vias de sinalização do EGFR. Além disso, o bFGF desempenha um papel no aumento da clonogenicidade e da multipotência das células NCH644, apoiando ainda mais a noção de que o bFGF é crucial para a manutenção das propriedades estaminais do glioma destas células.

Foi também demonstrado que as células NCH644 abrigam subpopulações de ciclo lento com retenção de marcadores que apresentam maior tumorigenicidade e resistência a tratamentos como a irradiação e a temozolomida. Esta subpopulação de células com retenção de marcadores na linha NCH644 é altamente tumorigénica, capaz de formar tumores em ratinhos imunocomprometidos, mesmo com um número reduzido de células. Estas características, combinadas com a sua resistência aos tratamentos padrão, fazem da linha NCH644 uma ferramenta essencial para a investigação de estratégias terapêuticas dirigidas às células estaminais do glioblastoma.

Organism Humano**Tissue** Cérebro**Disease** Glioblastoma**Caraterísticas****Age** 66 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Cultura de esferóides

Células NCH644 | 300124**Dados regulamentares**

Citation	NCH644 (número de catálogo Cytion 300124)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x914

Dados biomoleculares

Antigen expression	Altamente positivo para CD133
Tumorigenic	Sim
Ploidy status	Aneuploide

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 ₃ (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	2 x 10 ⁵ células/ml
Fluid renewal	2 a 3 vezes por semana

Células NCH644 | 300124

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.

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°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°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, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado 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°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Células NCH644 | 300124

Freezing Procedure

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.

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 inspeções visuais diárias.