

## Celule NCH644 | 300124

## Informații generale

## Description

Linia celulară NCH644 este o linie celulară de glioblastom de tip stem derivată din tumorile pacienților care nu prezintă amplificarea EGFR, ceea ce o face un model valoros pentru studiul biologiei glioblastomului, în special în contextul semnalizării factorului de creștere și al proprietăților celulelor stem. Studiile au demonstrat că, în celulele NCH644, factorul de creștere a fibroblastelor de bază (bFGF) joacă un rol semnificativ în medierea creșterii și menținerea caracteristicilor celulelor stem, în timp ce factorul de creștere epidermal (EGF) nu prezintă efecte similare. Celulele NCH644 răspund la bFGF prin creșterea expresiei markerilor celulelor stem, cum ar fi CD133 și nestin, și prezintă, de asemenea, o rezistență sporită la apoptoză. Această rezistență, împreună cu lipsa amplificării EGFR, face din NCH644 un model adecvat pentru înțelegerea comportamentului celulelor stem de tip glioblastom, în special în condiții diferite de factori de creștere.

O altă caracteristică notabilă a NCH644 este rata sa de proliferare mai lentă în comparație cu alte linii de celule stem-like de glioblastom, cum ar fi NCH421k. Cu toate acestea, atunci când sunt stimulate de bFGF, celulele NCH644 prezintă o expresie crescută a EGFR, chiar și în absența amplificării EGFR, ceea ce evidențiază interacțiunea dintre receptorii factorului de creștere a fibroblastelor (FGFR) și căile de semnalizare EGFR. În plus, bFGF joacă un rol în creșterea clonogenității și multipotenței celulelor NCH644, susținând în continuare ideea că bFGF este esențial pentru menținerea proprietăților de tip stem gliom ale acestor celule.

De asemenea, s-a demonstrat că celulele NCH644 adăpostesc subpopulații care rețin eticheta, cu ciclul lent, care prezintă o tumorigenitate crescută și rezistență la tratamente precum iradierea și temozolomida. Această subpopulație de celule care rețin eticheta în cadrul liniei NCH644 este foarte tumorigenă, fiind capabilă să formeze tumori la șoarecii imunocompromiși chiar și cu un număr mic de celule. Aceste caracteristici, combinate cu rezistența lor la tratamentele standard, fac din NCH644 un instrument esențial pentru investigarea strategiilor terapeutice care vizează celulele stem ale glioblastomului.

**Organism** Om

**Tissue** Creierul

**Disease** Glioblastom

## Caracteristici

**Age** 66 de ani

**Gender** Femei

**Ethnicity** Caucazian

**Growth properties** Cultura de sferoizi

## Date de reglementare

## Celule NCH644 | 300124

**Citation** NCH644 (număr de catalog Cytion 300124)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_x914

## Date biomoleculare

**Antigen expression** Foarte CD133 pozitiv**Tumorigenic** Da**Ploidy status** Aneuploid

## Manipulare

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (număr articol Cytion 820400a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS, 5 mg/L Heparină, 20 ng/mL bFGF, 20 microgram/L EGF, 5 mg/L Insulină, 100 mg/L Transferină, 5,2 microgram/L Na-selenit, 6,3 microgram/L Progesteron, 161,1 microgram/L Putrescin, 50 mg/L Hidrocortison**Subculturing** Pentru subcultivarea culturilor de sferoizi, începeți prin disocierea mecanică a sferoizilor prin pipetări în sus și în jos de 5-10 ori folosind o pipetă Eppendorf cu vârfuri filtrante de 1000 µl. După aceasta, se centrifughează amestecul la 300 g timp de 5 minute la temperatura camerei pentru a peletiza celulele. Aruncați supernatantul și resuspendați peletul celular în mediu de cultură proaspăt. În cele din urmă, transferați celulele resuspendate în vase de cultură noi pentru a promova formarea de sferoizi. Această abordare asigură descompunerea eficientă a sferoizilor și le pregătește pentru continuarea creșterii într-un mediu nou**Seeding density**  $2 \times 10^5$  celule/ml**Fluid renewal** de 2 până la 3 ori pe săptămână**Post-Thaw Recovery** După decongelare, lăsați celulele să se refacă după procesul de congelare timp de cel puțin 24 până la 48 de ore.

## Celule NCH644 | 300124

### Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim 50% mediu bazal + 40% FBS + 10% DMSO sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%<sub>CO2</sub>, atmosferă umidificată.

### Flask Coating

Niciuna

### Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

## Celule NCH644 | 300124

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.