

## NCH644-celler | 300124

## Allmän information

## Description

NCH644-cellinjen är en glioblastomstamliknande cellinje som härrör från patienttumörer som saknar EGFR-amplifiering, vilket gör den till en värdefull modell för att studera glioblastombiologi, särskilt i samband med tillväxtfaktorsignalering och stamcellsegenskaper. Studier har visat att i NCH644-celler spelar basisk fibroblasttillväxtfaktor (bFGF) en viktig roll för att förmedla tillväxt och upprätthålla stamcellsegenskaper, medan epidermal tillväxtfaktor (EGF) inte uppvisar liknande effekter. NCH644-celler svarar på bFGF genom att öka uttrycket av stamcellsmarkörer som CD133 och nestin, och de uppvisar också ökad motståndskraft mot apoptos. Denna resistens, i kombination med avsaknaden av EGFR-amplifiering, gör NCH644 till en lämplig modell för att förstå glioblastomstamliknande cellers beteende, särskilt under olika tillväxtfaktorförhållanden.

En annan anmärkningsvärd egenskap hos NCH644 är dess långsammare proliferationshastighet jämfört med andra glioblastomstamliknande cellinjer, såsom NCH421k. När NCH644-cellerna stimuleras av bFGF uppvisar de dock ett ökat uttryck av EGFR, även i avsaknad av EGFR-amplifiering, vilket belyser samspelet mellan fibroblasttillväxtfaktorreceptorer (FGFR) och EGFR-signalvägar. Dessutom spelar bFGF en roll för att öka klonogeniteten och multipotenciteten hos NCH644-celler, vilket ytterligare stöder uppfattningen att bFGF är avgörande för att upprätthålla de gliomstamliknande egenskaperna hos dessa celler.

NCH644-celler har också visat sig innehålla subpopulationer av celler som behåller märkningen och har långsam cykling, vilka uppvisar ökad tumörframkallande förmåga och resistens mot behandlingar som strålning och temozolomid. Denna subpopulation av celler med bibehållen märkning inom NCH644-linjen är mycket tumörframkallande och kan bilda tumörer i immunkomprometterade möss även med små cellantal. Dessa egenskaper, i kombination med deras resistens mot standardbehandlingar, gör NCH644 till ett viktigt verktyg för att undersöka terapeutiska strategier som riktar sig mot glioblastomstamceller.

**Organism** Människan

**Tissue** Hjärna

**Disease** Glioblastom

## Egenskaper

**Age** 66 år

**Gender** Kvinna

**Ethnicity** Kaukasisk

**Growth properties** Sfäroidkultur

## Lagstadgade uppgifter

## NCH644-celler | 300124

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

## Biomolekylära data

<b>Antigen expression</b>	Mycket CD133-positiv
<b>Tumorigenic</b>	Ja
<b>Ploidy status</b>	Aneuploid

## Hantering

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, 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 artikelnummer 820400a)
<b>Supplements</b>	Komplettera 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>	För subkultur av sfäroidkulturer börjar man med att mekaniskt dissociera sfäroiderna genom att pipettera upp och ner 5-10 gånger med en Eppendorf-pipett med 1000 µl filterspetsar. Centrifugera därefter blandningen vid 300 g i 5 minuter vid rumstemperatur för att pelletera cellerna. Kasserera supernatanten och resuspendera cellpelleten i färskt odlingsmedium. Överför slutligen de resuspenderade cellerna till nya odlingskärl för att främja ytterligare sfäroidbildning. Detta tillvägagångssätt säkerställer en effektiv nedbrytning av sfäroiderna och gör dem redo för fortsatt tillväxt i en ny miljö
<b>Split ratio</b>	Ett förhållande på 1:2 till 1:5 rekommenderas
<b>Seeding density</b>	2 x 10 <sup>5</sup> celler/ml
<b>Fluid renewal</b>	2 till 3 gånger per vecka

## NCH644-celler | 300124

### Post-Thaw Recovery

Låt cellerna återhämta sig från frysprocessen i minst 24 till 48 timmar efter upptining.

### Freeze medium

Som kryokonservationsmedium använder vi 50% basalt medium + 40% FBS + 10% DMSO, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfrys vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

## NCH644-celler | 300124

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

### STR-profil

**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