

**NCH644-Zellen | 300124**

**Allgemeine Informationen**

**Description**

Die NCH644-Zelllinie ist eine stammzellenähnliche Glioblastom-Zelllinie, die aus Patiententumoren ohne EGFR-Amplifikation gewonnen wird und somit ein wertvolles Modell für die Untersuchung der Glioblastombiologie darstellt, insbesondere im Zusammenhang mit der Signalübertragung von Wachstumsfaktoren und den Eigenschaften von Stammzellen. Studien haben gezeigt, dass in NCH644-Zellen der basische Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF) eine wichtige Rolle bei der Vermittlung des Wachstums und der Aufrechterhaltung der Stammzeleigenschaften spielt, während der epidermale Wachstumsfaktor (EGF) keine vergleichbaren Wirkungen zeigt. NCH644-Zellen reagieren auf bFGF mit einer verstärkten Expression von Stammzellmarkern wie CD133 und Nestin, und sie weisen auch eine erhöhte Apoptoseresistenz auf. Diese Resistenz in Verbindung mit dem Fehlen einer EGFR-Amplifikation macht NCH644 zu einem geeigneten Modell, um das Verhalten von stammzellähnlichen Glioblastomzellen zu verstehen, insbesondere unter verschiedenen Wachstumsfaktorbedingungen.

Ein weiteres bemerkenswertes Merkmal von NCH644 ist seine im Vergleich zu anderen stammähnlichen Glioblastom-Zelllinien, wie z. B. NCH421k, langsamere Proliferationsrate. Wenn NCH644-Zellen jedoch durch bFGF stimuliert werden, zeigen sie eine erhöhte Expression von EGFR, selbst wenn keine EGFR-Amplifikation vorliegt, was die Interaktion zwischen Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Rezeptoren (FGFRs) und EGFR-Signalwegen verdeutlicht. Darüber hinaus spielt bFGF eine Rolle bei der Erhöhung der Klonogenität und Multipotenz von NCH644-Zellen, was die Annahme stützt, dass bFGF für die Aufrechterhaltung der stammähnlichen Eigenschaften dieser Zellen entscheidend ist.

Es wurde auch gezeigt, dass NCH644-Zellen markierungserhaltende, langsam zyklierende Subpopulationen beherbergen, die eine erhöhte Tumorigenität und Resistenz gegenüber Behandlungen wie Bestrahlung und Temozolomid aufweisen. Diese Subpopulation markerhaltender Zellen innerhalb der NCH644-Linie ist hochgradig tumorerzeugend und in der Lage, in immungeschwächten Mäusen selbst bei geringer Zellzahl Tumore zu bilden. Diese Eigenschaften in Verbindung mit ihrer Resistenz gegen Standardbehandlungen machen NCH644 zu einem wichtigen Instrument für die Erforschung therapeutischer Strategien, die auf Glioblastom-Stammzellen abzielen.

**Organism** Menschen

**Tissue** Gehirn

**Disease** Glioblastom

**Merkmale**

**Age** 66 Jahre

**Gender** Weiblich

**Ethnicity** Kaukasisch

## NCH644-Zellen | 300124

**Growth properties** Sphäroid-Kultur

## Regulatorische Daten

**Citation** NCH644 (Cytion-Katalognummer 300124)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_x914

**Depositor** C. Herold-Mende

## Biomolekulare Daten

**Antigen expression** Hochgradig CD133-positiv

**Tumorigenic** Ja

**Ploidy status** Aneuploid

## Handhabung

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, 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)

**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS, 5 mg/L Heparin, 20 ng/mL bFGF, 20 Mikrogramm/L EGF, 5 mg/L Insulin, 100 mg/L Transferrin, 5,2 Mikrogramm/L Na-Selenit, 6,3 Mikrogramm/L Progesteron, 161,1 Mikrogramm/L Putrescin, 50 mg/L Hydrocortison

**Subculturing** Für die Subkultivierung von Sphäroidkulturen werden die Sphäroide zunächst mechanisch durch 5- bis 10-maliges Auf- und Abpipettieren mit einer Eppendorf-Pipette mit 1000- $\mu$ l-Filterspitzen dissoziiert. Danach zentrifugieren Sie die Mischung bei 300 g für 5 Minuten bei Raumtemperatur, um die Zellen zu pelletieren. Den Überstand verwerfen und das Zellpellet in frischem Kulturmedium resuspendieren. Schließlich überführen Sie die resuspendierten Zellen in neue Kulturgefäße, um die weitere Sphäroidbildung zu fördern. Diese Vorgehensweise gewährleistet einen effizienten Abbau der Sphäroide und bereitet sie auf ein weiteres Wachstum in einer neuen Umgebung vor

**Split ratio** Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:2 bis 1:5

## NCH644-Zellen | 300124

**Seeding density** 2 x 10<sup>5</sup> Zellen/ml

**Fluid renewal** 2 bis 3 Mal pro Woche

**Post-Thaw Recovery** Lassen Sie die Zellen nach dem Auftauen mindestens 24 bis 48 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen.

**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir 50 % Basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO oder CM-1 (Cytion-Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektiva und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und den kryoinduzierten Stress zu verringern.

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhären Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% <sub>CO2</sub>, befeuchtete Atmosphäre.

## NCH644-Zellen | 300124

### Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

### 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