

NCH612-celler | 300121

Generel information

Description

NCH612 er en patientafledt oligodendrocytisk cellelinje, der stammer fra humant hjernevæv og fungerer som en relevant forskningsmodel for anaplastisk oligodendrogliom (WHO grad III). Denne cellelinje har IDH1 R132H-mutationen, en karakteristisk genetisk ændring, der ofte er forbundet med oligodendrogliomer. Mutationen fører til epigenetiske modifikationer, herunder glioma CpG island methylator phenotype (G-CIMP), som bidrager til tumorudvikling og progression. Især udviser NCH612 en delvis deletion af kromosomarmene 1p og 19q, en genetisk egenskab, der ofte findes i oligodendrogliomer og er forbundet med bedre prognose og respons på visse behandlingsformer.

Undersøgelser har vist, at NCH612 er særligt følsom over for DNA-methyltransferasehæmmeren decitabin (DAC). Behandling med DAC resulterer i reduceret celleproliferation og kolonidannelse, primært gennem nedregulering af TERT (telomerase reverse transcriptase) og opregulering af p21, en cyclin-afhængig kinasehæmmer, der er involveret i DNA-skaderesponsen. Interessant nok ser denne følsomhed ud til at være forbundet med tilstedeværelsen af både IDH1-mutationen og 1p/19q-kodeletionen, da andre IDH1-mutante gliomcellelinjer uden denne deletion, såsom NCH1681, udviser resistens over for DAC. Disse resultater tyder på, at epigenetiske terapier som DAC kan være særligt effektive i IDH1-muterede anaplastiske oligodendrogliomer med 1p/19q-kodeletion.

Yderligere molekylære undersøgelser afslører, at DAC-behandling i NCH612-celler fører til berigelse af veje, der er relateret til DNA-replikation, cellecyklusregulering og lysosomal funktion, hvilket kaster lys over lægemidlets virkningsmekanisme. DAC's undertrykkelse af TERT medieres af p21, hvilket understreger denne vejs kritiske rolle i responsen på epigenetisk terapi. På grund af sin veldefinerede genetiske og epigenetiske profil repræsenterer NCH612 en værdifuld in vitro-model til undersøgelse af biologien i anaplastiske oligodendrogliomer og til udvikling af målrettede terapier rettet mod IDH1-mutante tumorer med 1p/19q-kodeletion.

Organism Menneske

Tissue Hjerne

Disease Anaplastisk oligodendrogliom, WHO grad III, IDH1-mutant (R132H)

Karakteristika

Age 39 år

Gender Mand

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Sfæroid kultur

NCH612-celler | 300121

Regulatoriske data

Citation	NCH612 (Cytion katalognummer 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913

Biomolekylære data

Håndtering

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 Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet 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
Subculturing	For at subkultivere sfæroidkulturer skal du begynde med at adskille sfæroiderne mekanisk ved at pipettere op og ned 5 til 10 gange ved hjælp af en Eppendorf-pipette med 1000 µl filterspidser. Herefter centrifugeres blandingen ved 300 g i 5 minutter ved stuetemperatur for at pelleterer cellerne. Kassér supernatanten, og resuspender cellepelleten i frisk kulturmedium. Til sidst overføres de resuspenderede celler til nye dyrkningsbeholdere for at fremme yderligere sfæroiddannelse. Denne fremgangsmåde sikrer en effektiv nedbrydning af sfæroiderne og gør dem klar til fortsat vækst i et nyt miljø
Seeding density	1 x 10 ⁵ celler/ml
Fluid renewal	Der skal tilsættes frisk medium hver 2. til 3. dag (2 til 5 ml afhængigt af celledyrkningskolbens størrelse).
Post-Thaw Recovery	Langsomt. Efter optøning skal cellerne have lov til at komme sig over fryseprocessen i mindst 48 timer.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

NCH612-celler | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

NCH612-celler | 300121

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

A*: '02:01:01
B*: '57:01:01, '57:01:01G
C*: '04:01:01
DRB1*: '11:01:01
DQA1*: '05:05:01
DQB1*: '03:01:01
DPB1*: '04:02:01
E: '01:03:02