

**NCH612-Zellen | 300121**

**Allgemeine Informationen**

**Description**

NCH612 ist eine von Patienten stammende oligodendrozytäre Zelllinie, die aus menschlichem Hirngewebe gewonnen wird und als relevantes Forschungsmodell für anaplastische Oligodendrogliome (WHO-Grad III) dient. Diese Zelllinie weist die IDH1 R132H-Mutation auf, eine charakteristische genetische Veränderung, die häufig mit Oligodendrogliomen assoziiert ist. Die Mutation führt zu epigenetischen Veränderungen, einschließlich des Gliom-CpG-Insel-Methylator-Phänotyps (G-CIMP), der zur Tumorentwicklung und -progression beiträgt. Insbesondere weist NCH612 eine partielle Deletion der Chromosomenarme 1p und 19q auf, ein genetisches Merkmal, das häufig bei Oligodendrogliomen vorkommt und mit einer besseren Prognose und einem besseren Ansprechen auf bestimmte Therapien in Verbindung gebracht wird.

Studien haben gezeigt, dass NCH612 besonders empfindlich auf den DNA-Methyltransferase-Inhibitor Decitabin (DAC) reagiert. Die Behandlung mit DAC führt zu einer verringerten Zellproliferation und Koloniebildung, in erster Linie durch die Herunterregulierung von TERT (Telomerase-Reverse-Transkriptase) und die Hochregulierung von p21, einem Cyclin-abhängigen Kinase-Inhibitor, der an der DNA-Schadensreaktion beteiligt ist. Interessanterweise scheint diese Empfindlichkeit mit dem Vorhandensein sowohl der IDH1-Mutation als auch der 1p/19q-Codeletion zusammenzuhängen, da andere IDH1-mutierte Gliomzelllinien ohne diese Deletion, wie z. B. NCH1681, eine Resistenz gegenüber DAC aufweisen. Diese Ergebnisse legen nahe, dass epigenetische Therapien wie DAC bei IDH1-mutierten anaplastischen Oligodendrogliomen mit 1p/19q-Codeletion besonders wirksam sein könnten.

Weitere molekulare Untersuchungen zeigen, dass die DAC-Behandlung in NCH612-Zellen zu einer Anreicherung von Signalwegen führt, die mit der DNA-Replikation, der Regulierung des Zellzyklus und der lysosomalen Funktion zusammenhängen, was ein Licht auf den Wirkmechanismus des Medikaments wirft. Die Unterdrückung von TERT durch DAC wird durch p21 vermittelt, was die kritische Rolle dieses Signalwegs für die Reaktion auf eine epigenetische Therapie unterstreicht. Angesichts seines gut definierten genetischen und epigenetischen Profils ist NCH612 ein wertvolles In-vitro-Modell für die Untersuchung der Biologie anaplastischer Oligodendrogliome und für die Entwicklung gezielter Therapien für IDH1-mutierte Tumoren mit 1p/19q-Codeletion.

**Organism** Menschen

**Tissue** Gehirn

**Disease** Anaplastisches Oligodendrogliom, WHO-Grad III, IDH1-Mutation (R132H)

**Merkmale**

**Age** 39 Jahre

**Gender** Männlich

**Ethnicity** Kaukasisch

## NCH612-Zellen | 300121

**Growth properties** Sphäroid-Kultur

## Regulatorische Daten

**Citation** NCH612 (Cytion Katalognummer 300121)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_x913

**Depositor** C. Herold-Mende

## Biomolekulare Daten

## 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

**Seeding density**  $1 \times 10^5$  Zellen/ml

**Fluid renewal** Alle 2 bis 3 Tage muss frisches Medium zugegeben werden (2 bis 5 ml je nach Größe der Zellkulturflasche).

## NCH612-Zellen | 300121

### Post-Thaw Recovery

Langsam. Nach dem Auftauen die Zellen mindestens 48 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen lassen.

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$ , 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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

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

## NCH612-Zellen | 300121

### 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

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 10  
**D16S539:** 11,13  
**D5S818:** 11,13  
**D7S820:** 10,11  
**TH01:** 6,7  
**TPOX:** 8,12  
**vWA:** 17  
**D3S1358:** 14,18  
**D21S11:** 28,31  
**D18S51:** 13  
**Penta E:** 11,14  
**Penta D:** 9,12  
**D8S1179:** 13  
**FGA:** 21

**NCH612-Zellen | 300121**

**HLA-Allele**

**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