

Cellules NCH612 | 300121

Informations générales

Description

NCH612 est une lignée cellulaire oligodendrocytaire dérivée de patients qui provient de tissus cérébraux humains et sert de modèle de recherche pertinent pour l'oligodendrogliome anaplasique (grade III de l'OMS). Cette lignée cellulaire est porteuse de la mutation IDH1 R132H, une altération génétique caractéristique fréquemment associée aux oligodendrogliomes. Cette mutation entraîne des modifications épigénétiques, notamment le phénotype de méthylateur d'îlots CpG de gliome (G-CIMP), qui contribue au développement et à la progression de la tumeur. NCH612 présente notamment une délétion partielle des bras chromosomiques 1p et 19q, une caractéristique génétique couramment rencontrée dans les oligodendrogliomes et associée à un meilleur pronostic et à une meilleure réponse à certaines thérapies.

Des études ont démontré que NCH612 est particulièrement sensible à l'inhibiteur de l'ADN méthyltransférase, la décitabine (DAC). Le traitement par DAC entraîne une réduction de la prolifération cellulaire et de la formation de colonies, principalement par la régulation à la baisse de TERT (transcriptase inverse de la télomérase) et la régulation à la hausse de p21, un inhibiteur de la kinase cycline-dépendante impliqué dans la réponse aux lésions de l'ADN. Il est intéressant de noter que cette sensibilité semble être liée à la présence de la mutation IDH1 et de la codélétion 1p/19q, car d'autres lignées cellulaires de gliome mutant IDH1 sans cette délétion, telles que NCH1681, présentent une résistance au DAC. Ces résultats suggèrent que les thérapies épigénétiques comme le DAC pourraient être particulièrement efficaces dans les oligodendrogliomes anaplasiques mutants IDH1 avec codélétion 1p/19q.

D'autres études moléculaires révèlent que le traitement au DAC dans les cellules NCH612 entraîne l'enrichissement des voies liées à la réplication de l'ADN, à la régulation du cycle cellulaire et à la fonction lysosomale, ce qui met en lumière le mécanisme d'action du médicament. La répression de TERT par DAC est médiée par p21, soulignant le rôle critique de cette voie dans la réponse à la thérapie épigénétique. Compte tenu de son profil génétique et épigénétique bien défini, NCH612 représente un modèle in vitro précieux pour l'étude de la biologie des oligodendrogliomes anaplasiques et pour le développement de thérapies ciblées sur les tumeurs mutantes IDH1 avec codélétion 1p/19q.

Organism Humain

Tissue Cerveau

Disease Oligodendrogliome anaplasique, grade III de l'OMS, IDH1 mutant (R132H)

Caractéristiques

Age 39 ans

Gender Homme

Ethnicity Caucasien

Growth properties Culture de sphéroïdes

Cellules NCH612 | 300121

Données réglementaires

Citation	NCH612 (numéro de catalogue Cytion 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913
Depositor	C. Herold-Mende

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO ₃ (numéro d'article Cytion 820400a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS, 5 mg/L d'héparine, 20 ng/mL de bFGF, 20 microgrammes/L d'EGF, 5 mg/L d'insuline, 100 mg/L de transferrine, 5,2 microgrammes/L de Na-sélénite, 6,3 microgrammes/L de progestérone, 161,1 microgrammes/L de putrescine, 50 mg/L d'hydrocortison, 5,2 microgrammes/L de Na-sélénite, 6,3 microgrammes/L de progestérone
Subculturing	Pour la sous-culture des cultures sphéroïdes, commencez par dissocier mécaniquement les sphéroïdes par pipetage de haut en bas 5 à 10 fois à l'aide d'une pipette Eppendorf avec des embouts filtrants de 1000 µl. Après cela, centrifuger le mélange à 300g pendant 5 minutes à température ambiante pour culotter les cellules. Jeter le surnageant et remettre en suspension le culot cellulaire dans un milieu de culture frais. Enfin, transférer les cellules remises en suspension dans de nouveaux récipients de culture pour favoriser la formation de sphéroïdes. Cette approche garantit une décomposition efficace des sphéroïdes et les prépare à poursuivre leur croissance dans un nouvel environnement
Split ratio	Un rapport de 1:2 à 1:5 est recommandé
Seeding density	1 x 10 ⁵ cellules/mL
Fluid renewal	Du milieu frais doit être ajouté tous les 2 à 3 jours (2 à 5 ml selon la taille du flacon de culture cellulaire).
Post-Thaw Recovery	Lent. Après la décongélation, laisser les cellules se remettre du processus de congélation pendant au moins 48 heures.

Cellules NCH612 | 300121

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons 50 % de milieu basal + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui contient des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Cellules NCH612 | 300121

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

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

Cellules NCH612 | 300121

Allèles HLA

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