

Cellule NCH612 | 300121

Informazioni generali

Description

NCH612 è una linea cellulare oligodendrocitica derivata da un paziente che proviene da tessuto cerebrale umano e serve come modello di ricerca per l'oligodendroglioma anaplastico (grado III dell'OMS). Questa linea cellulare è portatrice della mutazione IDH1 R132H, un'alterazione genetica caratteristica frequentemente associata agli oligodendrogliomi. La mutazione porta a modifiche epigenetiche, tra cui il fenotipo di metilatore delle isole CpG del glioma (G-CIMP), che contribuisce allo sviluppo e alla progressione del tumore. In particolare, NCH612 presenta una delezione parziale dei bracci cromosomici 1p e 19q, una caratteristica genetica comunemente riscontrata negli oligodendrogliomi e associata a una migliore prognosi e risposta a determinate terapie.

Gli studi hanno dimostrato che NCH612 è particolarmente sensibile all'inibitore della DNA metiltransferasi decitabina (DAC). Il trattamento con DAC determina una riduzione della proliferazione cellulare e della formazione di colonie, principalmente attraverso la downregulation di TERT (telomerasi trascrittasi inversa) e la upregulation di p21, un inibitore della chinasi ciclina-dipendente coinvolto nella risposta al danno al DNA. È interessante notare che questa sensibilità sembra essere legata alla presenza della mutazione IDH1 e della codelezione 1p/19q, poiché altre linee cellulari di glioma mutanti IDH1 senza questa delezione, come NCH1681, mostrano resistenza al DAC. Questi risultati suggeriscono che le terapie epigenetiche come la DAC potrebbero essere particolarmente efficaci negli oligodendrogliomi anaplastici IDH1-mutanti con codelezione 1p/19q.

Ulteriori indagini molecolari rivelano che il trattamento con DAC nelle cellule NCH612 porta all'arricchimento delle vie legate alla replicazione del DNA, alla regolazione del ciclo cellulare e alla funzione lisosomiale, facendo luce sul meccanismo d'azione del farmaco. La repressione di TERT da parte di DAC è mediata da p21, sottolineando il ruolo critico di questa via nella risposta alla terapia epigenetica. Dato il suo profilo genetico ed epigenetico ben definito, NCH612 rappresenta un modello in vitro prezioso per lo studio della biologia degli oligodendrogliomi anaplastici e per lo sviluppo di terapie mirate ai tumori IDH1-mutanti con codelezione 1p/19q.

Organism Umano

Tissue Cervello

Disease Oligodendroglioma anaplastico, grado WHO III, IDH1 mutante (R132H)

Caratteristiche

Age 39 anni

Gender Uomo

Ethnicity Caucasico

Growth properties Coltura di sferoidi

Cellule NCH612 | 300121

Dati normativi

Citation	NCH612 (numero di catalogo Cytion 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913
Depositor	C. Herold-Mende

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820400a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 5 mg/L di eparina, 20 ng/mL di bFGF, 20 microgrammi/L di EGF, 5 mg/L di insulina, 100 mg/L di transferrina, 5,2 microgrammi/L di Na-selenit, 6,3 microgrammi/L di progesterone, 161,1 microgrammi/L di putrescina, 50 mg/L di idrocortisone
Subculturing	Per la subcoltura delle colture di sferoidi, iniziare a dissociare meccanicamente gli sferoidi pipettando su e giù da 5 a 10 volte utilizzando una pipetta Eppendorf con punte filtranti da 1000 µl. Successivamente, centrifugare la miscela a 300g per 5 minuti a temperatura ambiente per pellettizzare le cellule. Scartare il surnatante e risospesare il pellet di cellule in terreno di coltura fresco. Infine, trasferire le cellule risospese in nuovi recipienti di coltura per promuovere l'ulteriore formazione di sferoidi. Questo approccio assicura un'efficiente disgregazione degli sferoidi e li prepara per una crescita continua in un nuovo ambiente
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:2 a 1:5
Seeding density	1 x 10 ⁵ cellule/mL
Fluid renewal	Il terreno di coltura deve essere aggiunto ogni 2 o 3 giorni (da 2 a 5 ml, a seconda delle dimensioni della fiasca di coltura).
Post-Thaw Recovery	Lentezza. Dopo lo scongelamento, lasciare che le cellule si riprendano dal processo di congelamento per almeno 48 ore.

Cellule NCH612 | 300121

Freeze medium

Come terreno di crioconservazione, utilizziamo 50% di terreno basale + 40% di FBS + 10% di DMSO, o CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress criodotto.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Cellule NCH612 | 300121

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo 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

Cellule NCH612 | 300121

Alleli 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