

NCH612 Cellen | 300121

Algemene informatie

Description

NCH612 is een van patiënten afkomstige oligodendrocytaire cellijn die afkomstig is van menselijk hersenweefsel en dient als relevant onderzoeksmodel voor anaplastisch oligodendroglioma (WHO-rang III). Deze cellijn bevat de IDH1 R132H-mutatie, een kenmerkende genetische verandering die vaak wordt geassocieerd met oligodendrogliomen. De mutatie leidt tot epigenetische modificaties, waaronder het glioom CpG eiland methylator fenotype (G-CIMP), dat bijdraagt aan de ontwikkeling en progressie van tumoren. Met name vertoont NCH612 een gedeeltelijke deletie van chromosoomarmen 1p en 19q, een genetisch kenmerk dat vaak wordt aangetroffen bij oligodendrogliomen en geassocieerd wordt met een betere prognose en respons op bepaalde therapieën.

Studies hebben aangetoond dat NCH612 bijzonder gevoelig is voor de DNA-methyltransferaseremmer decitabine (DAC). Behandeling met DAC resulteert in verminderde celproliferatie en kolonievorming, voornamelijk door de downregulatie van TERT (telomerase reverse transcriptase) en de upregulatie van p21, een cycline-afhankelijke kinaseremmer die betrokken is bij de DNA-schaderespons. Interessant genoeg lijkt deze gevoeligheid verband te houden met de aanwezigheid van zowel de IDH1-mutatie als de 1p/19q codeletie, aangezien andere IDH1-mutante glioomcellijnen zonder deze deletie, zoals NCH1681, resistentie vertonen tegen DAC. Deze bevindingen suggereren dat epigenetische therapieën zoals DAC bijzonder effectief zouden kunnen zijn in IDH1-mutante anaplastische oligodendrogliomen met 1p/19q codeletie.

Verder moleculair onderzoek laat zien dat DAC-behandeling in NCH612-cellen leidt tot de verrijking van pathways die gerelateerd zijn aan DNA-replicatie, celcyclusregulatie en lysosomale functie, wat licht werpt op het werkingsmechanisme van het geneesmiddel. De repressie van TERT door DAC wordt gemedieerd door p21, wat de kritische rol van deze pathway in de respons op epigenetische therapie benadrukt. Gezien het goed gedefinieerde genetische en epigenetische profiel is NCH612 een waardevol in vitro model voor het bestuderen van de biologie van anaplastische oligodendrogliomen en voor het ontwikkelen van gerichte therapieën gericht op IDH1-mutante tumoren met 1p/19q codeletie.

Organism

Mens

Tissue

Hersenen

Disease

Anaplastisch oligodendroglioom, WHO-rang III, IDH1-mutant (R132H)

Kenmerken

Age

39 jaar

Gender

Mannelijk

Ethnicity

Kaukasisch

Growth properties

Sferoïdecultuur

NCH612 Cellen | 300121

Regelgevende gegevens

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

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

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 Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS, 5 mg/L heparine, 20 ng/mL bFGF, 20 microgram/L EGF, 5 mg/L insuline, 100 mg/L transferrine, 5,2 microgram/L Na-selenit, 6,3 microgram/L progesteron, 161,1 microgram/L putrescine, 50 mg/L hydrocortison
Subculturing	Voor subcultuur sferoïde culturen, beginnen met het mechanisch scheiden van de sferoïden door pipetteren op en neer 5 tot 10 keer met behulp van een Eppendorf pipet met 1000 ul filtertips. Hierna centrifugeer je het mengsel bij 300g gedurende 5 minuten bij kamertemperatuur om de cellen te pelletteren. Gooi het supernatant weg en resuspendeer de celpellet in vers kweekmedium. Breng ten slotte de geresuspendeerde cellen over in nieuwe kweekvaten om verdere sferoïdvorming te bevorderen. Deze aanpak zorgt voor een efficiënte afbraak van de sferoïden en maakt ze klaar voor verdere groei in een nieuwe omgeving
Split ratio	Een verhouding van 1:2 tot 1:5 wordt aanbevolen
Seeding density	1 x 10 ⁵ cellen/ml
Fluid renewal	Om de 2 tot 3 dagen moet vers medium worden toegevoegd (2 tot 5 ml afhankelijk van de grootte van de celkweekkolf).
Post-Thaw Recovery	Langzaam. Laat de cellen na het ontdooien minstens 48 uur bijkomen van het vriesproces.

NCH612 Cellen | 300121

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we 50% basaal medium + 40% FBS + 10% DMSO, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en cryogeïnduceerde stress te verminderen.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $5\%_{\text{CO}_2}$, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

NCH612 Cellen | 300121

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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

HLA-allelen

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