

NCH612-celler | 300121

Generell informasjon

Description

NCH612 er en pasientavleddet oligodendrocytisk cellelinje som stammer fra humant hjernevev og fungerer som en relevant forskningsmodell for anaplastisk oligodendrogliom (WHO grad III). Denne cellelinjen har IDH1 R132H-mutasjonen, en karakteristisk genetisk endring som ofte er forbundet med oligodendrogliomer. Mutasjonen fører til epigenetiske modifikasjoner, inkludert gliom CpG-øy-metyleringsfenotypen (G-CIMP), som bidrar til tumorutvikling og progresjon. NCH612 har en partiell delesjon av kromosomarmene 1p og 19q, en genetisk egenskap som ofte forekommer i oligodendrogliomer og som er forbundet med bedre prognose og respons på visse behandlingsformer.

Studier har vist at NCH612 er spesielt følsom for DNA-metyltransferasehemmeren decitabin (DAC). Behandling med DAC fører til redusert celleproliferasjon og kolonidannelse, først og fremst gjennom nedregulering av TERT (telomerase revers transkriptase) og oppregulering av p21, en syklinavhengig kinasehemmer som er involvert i DNA-skaderesponsen. Interessant nok ser denne følsomheten ut til å være knyttet til tilstedeværelsen av både IDH1-mutasjonen og 1p/19q-kodeletjonen, ettersom andre IDH1-muterte gliomcellelinjer uten denne delesjonen, for eksempel NCH1681, viser resistens mot DAC. Disse funnene tyder på at epigenetiske terapier som DAC kan være spesielt effektive i IDH1-mutante anaplastiske oligodendrogliomer med 1p/19q-kodeletjon.

Ytterligere molekylære undersøkelser viser at DAC-behandling i NCH612-celler fører til en anrikning av signalveier knyttet til DNA-replikasjon, cellesyklusregulering og lysosomal funksjon, noe som kaster lys over stoffets virkningsmekanisme. DACs undertrykkelse av TERT medieres av p21, noe som understreker den kritiske rollen denne signalveien spiller i responsen på epigenetisk terapi. På grunn av den veldefinerte genetiske og epigenetiske profilen representerer NCH612 en verdifull in vitro-modell for å studere biologien til anaplastiske oligodendrogliomer og for å utvikle målrettede terapier rettet mot IDH1-mutante svulster med 1p/19q-kodeletjon.

Organism

Menneskelig

Tissue

Hjerne

Disease

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

Kjennetegn

Age

39 år

Gender

Mann

Ethnicity

Kaukasisk

Growth properties

Sfæroid kultur

Regulatoriske data

NCH612-celler | 300121

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

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)
Supplements	Suppler 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 subkulturer av sfæroidkulturer begynner du med å dissosiere sfæroidene mekanisk ved å pipettere opp og ned 5 til 10 ganger med en Eppendorf-pipette med 1000 µl filterspisser. Deretter sentrifugeres blandingen ved 300 g i 5 minutter ved romtemperatur for å pelletere cellene. Kast supernatanten, og resuspender cellepelletten i nytt dyrkingsmedium. Overfør til slutt de resuspenderte cellene til nye dyrkningsbeholdere for å fremme ytterligere sfæroiddannelse. Denne fremgangsmåten sikrer effektiv nedbrytning av sfæroidene og gjør dem klare for fortsatt vekst i et nytt miljø
Split ratio	Et forhold på 1:2 til 1:5 anbefales
Seeding density	1 x 10 ⁵ celler/ml
Fluid renewal	Nytt medium må tilsettes hver 2. til 3. dag (2 til 5 ml avhengig av størrelsen på cellekulturkolben).
Post-Thaw Recovery	Langsomt. Etter tining må du la cellene restituere seg fra fryseprosessen i minst 48 timer.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

NCH612-celler | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

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

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

NCH612-celler | 300121

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

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

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