

Células NCH612 | 300121**Informações gerais****Description**

A NCH612 é uma linha celular oligodendrocítica derivada de um doente que tem origem em tecido cerebral humano e serve de modelo de investigação relevante para o oligodendroglioma anaplásico (grau III da OMS). Esta linha de células contém a mutação IDH1 R132H, uma alteração genética característica frequentemente associada a oligodendrogliomas. A mutação conduz a modificações epigenéticas, incluindo o fenótipo de metilação de ilhas CpG de glioma (G-CIMP), que contribui para o desenvolvimento e a progressão do tumor. Em particular, o NCH612 apresenta uma deleção parcial dos braços cromossômicos 1p e 19q, uma característica genética comumente encontrada nos oligodendrogliomas e associada a um melhor prognóstico e resposta a determinadas terapêuticas.

Estudos demonstraram que o NCH612 é particularmente sensível ao inibidor da DNA metiltransferase decitabina (DAC). O tratamento com DAC resulta numa redução da proliferação celular e da formação de colónias, principalmente através da regulação negativa da TERT (transcriptase reversa da telomerase) e da regulação positiva da p21, um inibidor da quinase dependente da ciclina envolvido na resposta aos danos no ADN. É interessante notar que esta sensibilidade parece estar ligada à presença da mutação IDH1 e da codeleção 1p/19q, uma vez que outras linhas celulares de glioma com mutação IDH1 sem esta deleção, como a NCH1681, apresentam resistência à DAC. Estes resultados sugerem que as terapias epigenéticas, como a DAC, podem ser particularmente eficazes nos oligodendrogliomas anaplásicos com mutação IDH1 e com a codificação 1p/19q.

Outras investigações moleculares revelam que o tratamento com DAC nas células NCH612 leva ao enriquecimento de vias relacionadas com a replicação do ADN, a regulação do ciclo celular e a função lisossômica, lançando luz sobre o mecanismo de ação do fármaco. A repressão de TERT por DAC é mediada por p21, enfatizando o papel crítico desta via na resposta à terapia epigenética. Dado o seu perfil genético e epigenético bem definido, o NCH612 representa um modelo in vitro valioso para o estudo da biologia dos oligodendrogliomas anaplásicos e para o desenvolvimento de terapias direcionadas para os tumores mutantes IDH1 com codeleção 1p/19q.

Organism Humano**Tissue** Cérebro**Disease** Oligodendroglioma anaplásico, grau III da OMS, mutante IDH1 (R132H)**Caraterísticas****Age** 39 anos**Gender** Masculino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Cultura de esferóides

Células NCH612 | 300121**Dados regulamentares**

Citation	NCH612 (número de catálogo Cytion 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913

Dados biomoleculares**Manuseamento**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo Cytion 820400a)
Supplements	Suplementar o meio com 10% de FBS, 5 mg/L de heparina, 20 ng/mL de bFGF, 20 microgramas/L de EGF, 5 mg/L de insulina, 100 mg/L de transferrina, 5,2 microgramas/L de Na-selenit, 6,3 microgramas/L de progesterona, 161,1 microgramas/L de putrescina, 50 mg/L de hidrocortisona
Subculturing	Para subcultura de culturas de esferóides, começar por dissociar mecanicamente os esferóides através de pipetagem para cima e para baixo 5 a 10 vezes utilizando uma pipeta Eppendorf com pontas de filtro de 1000 µl. Depois disso, centrifugar a mistura a 300 g durante 5 minutos à temperatura ambiente para sedimentar as células. Deitar fora o sobrenadante e ressuspender o pellet de células em meio de cultura fresco. Por fim, transferir as células ressuspensas para novos recipientes de cultura para promover a formação de novos esferóides. Esta abordagem assegura uma decomposição eficiente dos esferóides e prepara-os para um crescimento contínuo num novo ambiente
Seeding density	1 x 10 ⁵ células/mL
Fluid renewal	De 2 em 2 ou de 3 em 3 dias (2 a 5 ml consoante o tamanho do frasco de cultura de células) deve ser adicionado um novo meio.
Post-Thaw Recovery	Lento. Após a descongelação, deixar as células recuperarem do processo de congelação durante, pelo menos, 48 horas.
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células NCH612 | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células NCH612 | 300121

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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