

NCH612-celler | 300121

Allmän information

Description

NCH612 är en oligodendrocytisk cellinje som härrör från patienter och som har sitt ursprung i mänsklig hjärnvävnad och fungerar som en relevant forskningsmodell för anaplastiskt oligodendrogliom (WHO grad III). Denna cellinje har IDH1 R132H-mutationen, en karakteristisk genetisk förändring som ofta förknippas med oligodendrogliom. Mutationen leder till epigenetiska modifieringar, inklusive glioma CpG island metylator phenotype (G-CIMP), som bidrar till tumörutveckling och progression. NCH612 uppvisar dessutom en partiell deletion av kromosomarmarna 1p och 19q, en genetisk egenskap som är vanligt förekommande i oligodendrogliom och som förknippas med bättre prognos och respons på vissa behandlingar.

Studier har visat att NCH612 är särskilt känslig för DNA-metyltransferashämmaren decitabin (DAC). Behandling med DAC leder till minskad cellproliferation och kolonibildning, främst genom nedreglering av TERT (telomeras omvänt transkriptas) och uppreglering av p21, en cyklinberoende kinashämmare som är involverad i DNA-skadesvaret. Intressant nog verkar denna känslighet vara kopplad till förekomsten av både IDH1-mutationen och 1p/19q-kodeletionen, eftersom andra IDH1-mutanta gliomcellinjer utan denna deletion, som NCH1681, uppvisar resistens mot DAC. Dessa resultat tyder på att epigenetiska behandlingar som DAC kan vara särskilt effektiva vid IDH1-mutant anaplastiskt oligodendrogliom med 1p/19q-kodeletion.

Ytterligare molekylära undersökningar visar att DAC-behandling i NCH612-celler leder till en anrikning av vägar som är relaterade till DNA-replikation, cellcykelreglering och lysosomal funktion, vilket belyser läkemedlets verkningsmekanism. Repressionen av TERT genom DAC medieras av p21, vilket understryker den kritiska roll som denna signalväg spelar för svaret på epigenetisk terapi. Med sin väldefinierade genetiska och epigenetiska profil utgör NCH612 en värdefull in vitro-modell för att studera biologin hos anaplastiska oligodendrogliom och för att utveckla riktade behandlingar mot IDH1-mutanta tumörer med 1p/19q-kodeletion.

Organism Människan

Tissue Hjärna

Disease Anaplastiskt oligodendrogliom, WHO grad III, IDH1-mutant (R132H)

Egenskaper

Age 39 år

Gender Man

Ethnicity Kaukasisk

Growth properties Sfäroidkultur

Lagstadgade uppgifter

NCH612-celler | 300121

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

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Komplettera 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	För subkultur av sfäroidkulturer börjar man med att mekaniskt dissociera sfäroiderna genom att pipettera upp och ner 5-10 gånger med en Eppendorf-pipett med 1000 µl filterspetsar. Centrifugera därefter blandningen vid 300 g i 5 minuter vid rumstemperatur för att pelletera cellerna. Kasserera supernatanten och resuspendera cellpelleten i färskt odlingsmedium. Överför slutligen de resuspenderade cellerna till nya odlingskärl för att främja ytterligare sfäroidbildning. Detta tillvägagångssätt säkerställer en effektiv nedbrytning av sfäroiderna och gör dem redo för fortsatt tillväxt i en ny miljö
Split ratio	Ett förhållande på 1:2 till 1:5 rekommenderas
Seeding density	1 x 10 ⁵ celler/ml
Fluid renewal	Färskt medium måste tillsättas varannan till var tredje dag (2-5 ml beroende på cellodlingskolvens storlek).
Post-Thaw Recovery	Långsamt. Låt cellerna återhämta sig från frysprocessen i minst 48 timmar efter upptining.
Freeze medium	Som kryokonservationsmedium använder vi 50% basalt medium + 40% FBS + 10% DMSO, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

NCH612-celler | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

NCH612-celler | 300121

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmediagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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