Cellules NCH612

300121

La lignée cellulaire NCH612 est une lignée oligodendrocytaire dérivée d'un patient, issue de tissu cérébral humain, qui constitue un modèle de recherche pertinent pour l'oligodendrogliome anaplasique (grade III selon l'OMS). Cette lignée cellulaire porte la mutation IDH1 R132H, une altération génétique caractéristique fréquemment associée aux oligodendrogliomes. Cette mutation entraîne des modifications épigénétiques, notamment le phénotype de méthylation des îlots CpG des gliomes (G-CIMP), qui contribue au développement et à la progression de la tumeur. Il convient de noter que la lignée NCH612 présente une délétion partielle des bras chromosomiques 1p et 19q, une caractéristique génétique couramment observée dans les oligodendrogliomes et associée à un meilleur pronostic ainsi qu'à une meilleure réponse à certaines thérapies.

Des études ont démontré que le NCH612 est particulièrement sensible à la décitabine (DAC), un inhibiteur de la méthyltransférase d'ADN. Le traitement par la DAC entraîne une réduction de la prolifération cellulaire et de la formation de colonies, principalement par la régulation à la baisse de TERT (transcriptase inverse de la télomérase) et la régulation à la hausse de p21, un inhibiteur de kinase dépendant des cyclines impliqué dans la réponse aux dommages à l'ADN. Il est intéressant de noter que cette sensibilité semble liée à la présence à la fois de la mutation IDH1 et de la codélétion 1p/19q, car d'autres lignées cellulaires de gliomes présentant une mutation IDH1 mais dépourvues de cette délétion, comme la lignée NCH1681, se montrent résistantes à la DAC. Ces résultats suggèrent que les thérapies épigénétiques comme le DAC pourraient être particulièrement efficaces dans les oligodendrogliomes anaplasiques porteurs d'une mutation IDH1 et présentant une codélétion 1p/19q.

Des analyses moléculaires plus approfondies révèlent que le traitement par le DAC dans les cellules NCH612 entraîne un enrichissement des voies liées à la réplication de l'ADN, à la régulation du cycle cellulaire et à la fonction lysosomale, ce qui éclaire le mécanisme d'action du médicament. La répression de TERT par le DAC est médiée par p21, ce qui souligne le rôle crucial de cette voie dans la réponse à la thérapie épigénétique. Compte tenu de son profil génétique et épigénétique bien défini, la lignée NCH612 constitue un modèle in vitro précieux pour l'étude de la biologie des oligodendrogliomes anaplasiques et pour le développement de thérapies ciblées destinées aux tumeurs porteuses d'une mutation IDH1 et présentant une codélétion 1p/19q.

GENERAL INFORMATION

Description

La lignée cellulaire NCH612 est une lignée oligodendrocytaire dérivée d'un patient, issue de tissu cérébral humain, qui constitue un modèle de recherche pertinent pour l'oligodendrogliome anaplasique (grade III selon l'OMS). Cette lignée cellulaire porte la mutation IDH1 R132H, une altération génétique caractéristique fréquemment associée aux oligodendrogliomes. Cette mutation entraîne des modifications épigénétiques, notamment le phénotype de méthylation des îlots CpG des gliomes (G-CIMP), qui contribue au développement et à la progression de la tumeur. Il convient de noter que la lignée NCH612 présente une délétion partielle des bras chromosomiques 1p et 19q, une caractéristique génétique couramment observée dans les oligodendrogliomes et associée à un meilleur pronostic ainsi qu'à une meilleure réponse à certaines thérapies.

Des études ont démontré que le NCH612 est particulièrement sensible à la décitabine (DAC), un inhibiteur de la méthyltransférase d'ADN. Le traitement par la DAC entraîne une réduction de la prolifération cellulaire et de la formation de colonies, principalement par la régulation à la baisse de TERT (transcriptase inverse de la télomérase) et la régulation à la hausse de p21, un inhibiteur de kinase dépendant des cyclines impliqué dans la réponse aux dommages à l'ADN. Il est intéressant de noter que cette sensibilité semble liée à la présence à la fois de la mutation IDH1 et de la codélétion 1p/19q, car d'autres lignées cellulaires de gliomes présentant une mutation IDH1 mais dépourvues de cette délétion, comme la lignée NCH1681, se montrent résistantes à la DAC. Ces résultats suggèrent que les thérapies épigénétiques comme le DAC pourraient être particulièrement efficaces dans les oligodendrogliomes anaplasiques porteurs d'une mutation IDH1 et présentant une codélétion 1p/19q.

Des analyses moléculaires plus approfondies révèlent que le traitement par le DAC dans les cellules NCH612 entraîne un enrichissement des voies liées à la réplication de l'ADN, à la régulation du cycle cellulaire et à la fonction lysosomale, ce qui éclaire le mécanisme d'action du médicament. La répression de TERT par le DAC est médiée par p21, ce qui souligne le rôle crucial de cette voie dans la réponse à la thérapie épigénétique. Compte tenu de son profil génétique et épigénétique bien défini, la lignée NCH612 constitue un modèle in vitro précieux pour l'étude de la biologie des oligodendrogliomes anaplasiques et pour le développement de thérapies ciblées destinées aux tumeurs porteuses d'une mutation IDH1 et présentant une codélétion 1p/19q.

Tissue	Cerveau
Disease	Oligodendrogliome anaplasique, grade III selon l'OMS, mutation IDH1 (R132H)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Biosafety level	1

IDENTIFIERS

Citation

NCH612 (numéro de catalogue Cytion 300121)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_x913

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de $NaHCO_3$ (référence Cytion 820400a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Supplements

Ajouter au milieu 5 mg/L d'héparine, 20 ng/mL de bFGF, 20 microgrammes/L d'EGF, 5 mg/L d'insuline, 100 mg/L de transferrine, 5,2 microgrammes/L de sélénite de sodium, 6,3 microgrammes/L de progestérone, 161,1 microgrammes/L de putrescine et 50 mg/L d'hydrocortisone

Subculturing

Pour la repiquage de cultures de sphéroïdes, commencez par dissocier mécaniquement les sphéroïdes en effectuant 5 à 10 mouvements de pipetage de haut en bas à l'aide d'une pipette Eppendorf munie d'embouts filtrants de 1 000 µl. Ensuite, centrifugez le mélange à 300 g pendant 5 minutes à température ambiante pour obtenir un culot cellulaire. Éliminez le surnageant et remettez le culot cellulaire en suspension dans un milieu de culture frais. Enfin, transférez les cellules remises en suspension dans de nouveaux récipients de culture afin de favoriser la poursuite de la formation de sphéroïdes. Cette approche garantit une désagrégation efficace des sphéroïdes et les prépare à poursuivre leur croissance dans un nouvel environnement.

Seeding density	1×10^5 cellules/mL
Fluid renewal	Il faut ajouter du milieu frais tous les 2 à 3 jours (de 2 à 5 ml selon la taille du flacon de culture cellulaire).
Post-thaw recovery	Prendre son temps. Après la décongélation, laisser les cellules se remettre du processus de congélation pendant au moins 48 heures.

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.
Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un mélange composé de 50 % de milieu de base + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, ou du CM-1 (numéro de catalogue Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés afin d’améliorer la récupération et de réduire le stress induit par la cryoconservation.

Storage conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Shipping conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d’environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

DONOR

Donor age	39 ans
Ethnicity	caucasien

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu’on prévoit entreposer un cryotube dans de l’azote liquide en vue d’une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l’utilisation d’un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d’échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d’azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d’éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d’analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

Third-party agreements apply	Yes