

Клетки NCH612 | 300121

Обща информация

Description

NCH612 е олигодендроцитна клетъчна линия, получена от пациент, която произхожда от човешка мозъчна тъкан и служи като подходящ изследователски модел за анапластичен олигодендроглиом (III степен по СЗО). Тази клетъчна линия носи мутацията IDH1 R132H, характерна генетична промяна, често свързвана с олигодендроглиомите. Мутацията води до епигенетични модификации, включително до фенотип на метилиране на глиомни CpG острови (G-CIMP), който допринася за развитието и прогресията на тумора. Забележително е, че NCH612 показва частична делеция на хромозомни рамена 1p и 19q - генетична характеристика, която често се среща при олигодендроглиомите и се свързва с по-добра прогноза и отговор на определени терапии.

Проучванията показват, че NCH612 е особено чувствителен към инхибитора на ДНК метилтрансферазата децитабин (DAC). Лечението с DAC води до намаляване на клетъчната пролиферация и образуването на колонии, главно чрез понижаване на TERT (теломеразна обратна транскриптаза) и повишаване на регулацията на p21, циклино-зависим киназен инхибитор, участващ в отговора на ДНК увреждането. Интересно е, че тази чувствителност изглежда е свързана с наличието на мутация на IDH1 и коделеция на 1p/19q, тъй като други клетъчни линии на глиом с мутация на IDH1 без тази делеция, като NCH1681, проявяват резистентност към DAC. Тези констатации предполагат, че епигенетичните терапии като DAC могат да бъдат особено ефективни при IDH1-мутантните анапластични олигодендроглиомии с 1p/19q коделеция.

По-нататъшни молекулярни изследвания разкриват, че третирането с DAC в клетките NCH612 води до обогатяване на пътищата, свързани с репликацията на ДНК, регулирането на клетъчния цикъл и лизозомната функция, което хвърля светлина върху механизма на действие на лекарството. Потискането на TERT от DAC се осъществява с посредничеството на p21, което подчертава критичната роля на този път в отговора на епигенетичната терапия. Като се има предвид добре дефинираният генетичен и епигенетичен профил, NCH612 представлява ценен *in vitro* модел за изучаване на биологията на анапластичните олигодендроглиомии и за разработване на целенасочени терапии, насочени към IDH1-мутантните тумори с 1p/19q коделеция.

Organism

Човек

Tissue

Мозък

Disease

Анапластичен олигодендроглиом, III степен по СЗО, мутант на IDH1 (R132H)

Характеристики

Age

39 години

Gender

Мъжки

Ethnicity

Кавказки

Клетки NCH612 | 300121

Growth properties Сфероидна култура

Регулаторни данни

Citation NCH612 (каталожен номер 300121 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x913

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)

Supplements Допълнете средата с 10% FBS, 5 mg/L хепарин, 20 ng/mL bFGF, 20 microgram/L EGF, 5 mg/L инсулин, 100 mg/L трансферин, 5,2 microgram/L Na-selenit, 6,3 microgram/L прогестерон, 161,1 microgram/L путресцин, 50 mg/L хидрокортизон

Subculturing За субкултивиране на сфероидните култури започнете с механично разделяне на сфероидите чрез пипетиране нагоре-надолу 5 до 10 пъти с помощта на пипета Eppendorf с 1000 µl филтърни накрайници. След това центрофугирайте сместа при 300 g в продължение на 5 минути при стайна температура, за да се изсипят клетките. Изхвърлете супернатантата и ресуспендирайте клетъчната пелета в свежа хранителна среда. Накрая прехвърлете ресуспендираните клетки в нови съдове за култивиране, за да стимулирате по-нататъшното формиране на сфероиди. Този подход осигурява ефективно разпадане на сфероидите и ги подготвя за продължаване на растежа в нова среда

Seeding density 1 x 10⁵ клетки/мл

Fluid renewal На всеки 2-3 дни трябва да се добавя свежа среда (от 2 до 5 ml в зависимост от размера на колбата за клетъчна култура).

Post-Thaw Recovery Бавно. След размразяването оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване за поне 48 часа.

Клетки NCH612 | 300121

Freeze medium

Като среда за криоконсервация използваме 50% базова среда + 40% FBS + 10% DMSO или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки NCH612 | 300121

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

HLA алели

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