

Buňky NCH612 | 300121**Obecné informace****Description**

NCH612 je oligodendrocytární buněčná linie odvozená od pacienta, která pochází z lidské mozkové tkáně a slouží jako vhodný model pro výzkum anaplastického oligodendrogliomu (WHO grade III). Tato buněčná linie obsahuje mutaci IDH1 R132H, což je charakteristická genetická změna často spojovaná s oligodendrogliomy. Mutace vede k epigenetickým modifikacím, včetně fenotypu gliomového metylátoru ostrovů CpG (G-CIMP), který přispívá k rozvoji a progresi nádoru. NCH612 vykazuje zejména částečnou delecí ramen chromozomu 1p a 19q, což je genetická charakteristika, která se běžně vyskytuje u oligodendrogliomů a je spojena s lepší prognózou a odpovědí na některé terapie.

Studie prokázaly, že NCH612 je obzvláště citlivý na inhibitor DNA metyltransferázy decitabin (DAC). Léčba DAC vede ke snížení buněčné proliferace a tvorby kolonií, především prostřednictvím downregulace TERT (telomerázové reverzní transkriptázy) a upregulace p21, inhibitoru cyklin-dependentní kinázy, který se podílí na reakci na poškození DNA. Zajímavé je, že tato citlivost zřejmě souvisí s přítomností mutace IDH1 i kodelece 1p/19q, protože jiné buněčné linie gliomů s mutací IDH1 bez této delecce, jako je NCH1681, vykazují rezistenci vůči DAC. Tato zjištění naznačují, že epigenetické terapie, jako je DAC, by mohly být účinné zejména u anaplastických oligodendrogliomů s mutací IDH1 a kodeleci 1p/19q.

Další molekulární výzkumy odhalily, že léčba DAC v buňkách NCH612 vede k obohacení drah souvisejících s replikací DNA, regulací buněčného cyklu a lysozomální funkcí, což vrhá světlo na mechanismus účinku léku. Represe TERT působením DAC je zprostředkována p21, což zdůrazňuje kritickou roli této dráhy v odpovědi na epigenetickou terapii. Vzhledem k dobře definovanému genetickému a epigenetickému profilu představuje NCH612 cenný in vitro model pro studium biologie anaplastických oligodendrogliomů a pro vývoj cílené terapie zaměřené na IDH1-mutované nádory s kodeleci 1p/19q.

Organism

Člověk

Tissue

Mozek

Disease

Anaplastický oligodendrogliom, WHO grade III, mutace IDH1 (R132H)

Charakteristika**Age**

39 let

Gender

Muži

Ethnicity

Kavkazský

Growth properties

Sféroidní kultura

Regulační údaje

Buňky NCH612 | 300121

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

Biomolekulární data**Zpracování**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium 10% FBS, 5 mg/l heparinu, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramů/l EGF, 5 mg/l inzulinu, 100 mg/l transferinu, 5,2 mikrogramů/l Na-selenitu, 6,3 mikrogramů/l progesteronu, 161,1 mikrogramů/l putrescinu, 50 mg/l hydrokortisonu
Subculturing	Při subkultivaci sféroidních kultur začněte mechanickou disociací sféroidů pipetováním 5 až 10krát nahoru a dolů pomocí pipety Eppendorf s filtračními špičkami o objemu 1000 µl. Poté směs odstředíte při 300 g po dobu 5 minut při pokojové teplotě, aby se buňky peletovaly. Supernatant zlikvidujte a buněčnou peletu znovu rozpustíte v čerstvém kultivačním médiu. Nakonec přeneste resuspendované buňky do nových kultivačních nádob, abyste podpořili další tvorbu sféroidů. Tento postup zajišťuje účinné rozdělení sféroidů a připravuje je na další růst v novém prostředí
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:5
Seeding density	1 x 10 ⁵ buněk/ml
Fluid renewal	Každé 2 až 3 dny je třeba přidat čerstvé médium (2 až 5 ml v závislosti na velikosti baňky s buněčnou kulturou).
Post-Thaw Recovery	Pomalé. Po rozmrazení nechte buňky alespoň 48 hodin zotavovat z procesu zmrazování.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

Buňky NCH612 | 300121**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky NCH612 | 300121

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

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

Alely 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