

Κύτταρα NCH612 | 300121

Γενικές πληροφορίες

Description

Η NCH612 είναι μια ολιγοδενδροκυτταρική κυτταρική σειρά που προέρχεται από ασθενή και προέρχεται από ανθρώπινο εγκεφαλικό ιστό και χρησιμεύει ως σχετικό ερευνητικό μοντέλο για το αναπλαστικό ολιγοδενδρογλοίωμα (βαθμός III κατά WHO). Αυτή η κυτταρική σειρά φέρει τη μετάλλαξη IDH1 R132H, μια χαρακτηριστική γενετική μεταβολή που συνδέεται συχνά με τα ολιγοδενδρογλοιώματα. Η μετάλλαξη οδηγεί σε επιγενετικές τροποποιήσεις, συμπεριλαμβανομένου του φαινότυπου μεθυλιωτή των νησίδων CpG του γλοιώματος (G-CIMP), ο οποίος συμβάλλει στην ανάπτυξη και εξέλιξη του όγκου. Ειδικότερα, το NCH612 παρουσιάζει μερική διαγραφή των χρωμοσωμικών βραχιόνων 1p και 19q, ένα γενετικό χαρακτηριστικό που απαντάται συνήθως στα ολιγοδενδρογλοιώματα και σχετίζεται με καλύτερη πρόγνωση και ανταπόκριση σε ορισμένες θεραπείες.

Μελέτες έχουν καταδείξει ότι το NCH612 είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στον αναστολέα της μεθυλοτρανσφεράσης του DNA, τη δεσιταβίνη (DAC). Η θεραπεία με DAC οδηγεί σε μειωμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και σχηματισμό αποικιών, κυρίως μέσω της μείωσης της TERT (αντίστροφη μεταγραφάση της τελομεράσης) και της αύξησης της p21, ενός αναστολέα της κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης που εμπλέκεται στην απόκριση στη βλάβη του DNA. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτή η ευαισθησία φαίνεται να συνδέεται με την παρουσία τόσο της μετάλλαξης IDH1 όσο και της κωδικοποίησης 1p/19q, καθώς άλλες κυτταρικές σειρές γλοιώματος με μετάλλαξη IDH1 χωρίς αυτή τη διαγραφή, όπως η NCH1681, παρουσιάζουν αντίσταση στην DAC. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι οι επιγενετικές θεραπείες όπως η DAC θα μπορούσαν να είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικές στα αναπλαστικά ολιγοδενδρογλοιώματα με μετάλλαξη IDH1 και κωδικοποίηση 1p/19q.

Περαιτέρω μοριακές έρευνες αποκαλύπτουν ότι η θεραπεία με DAC σε κύτταρα NCH612 οδηγεί στον εμπλουτισμό μονοπατιών που σχετίζονται με την αντιγραφή του DNA, τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και τη λυσοσωμική λειτουργία, ρίχνοντας φως στον μηχανισμό δράσης του φαρμάκου. Η καταστολή του TERT από την DAC διαμεσολαβείται από την p21, τονίζοντας τον κρίσιμο ρόλο αυτού του μονοπατιού στην απόκριση στην επιγενετική θεραπεία. Δεδομένου του καλά καθορισμένου γενετικού και επιγενετικού προφίλ του, το NCH612 αποτελεί ένα πολύτιμο *in vitro* μοντέλο για τη μελέτη της βιολογίας των αναπλαστικών ολιγοδενδρογλοιωμάτων και για την ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών που στοχεύουν σε όγκους με μετάλλαξη IDH1 και κωδικοποίηση 1p/19q.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Εγκέφαλος

Disease

Αναπλαστικό ολιγοδενδρογλοίωμα, βαθμού III κατά WHO, μεταλλαγμένο IDH1 (R132H)

Χαρακτηριστικά

Age

39 χρόνια

Gender

Άντρας

Ethnicity

Καυκάσιος

Κύτταρα NCH612 | 300121

Growth properties

Σφαιροειδής καλλιέργεια

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation NCH612 (αριθμός καταλόγου Cytion 300121)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x913

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 5 mg/L ηπαρίνη, 20 ng/mL bFGF, 20 μικρογραμμάρια/L EGF, 5 mg/L ινσουλίνη, 100 mg/L τρανσφερρίνη, 5,2 μικρογραμμάρια/L Na-σεληνίτη, 6,3 μικρογραμμάρια/L προγεστερόνη, 161,1 μικρογραμμάρια/L πουτρεσίνη, 50 mg/L υδροκορτίνη**Subculturing** Για την υποκαλλιέργεια καλλιεργειών σφαιροειδών, ξεκινήστε με μηχανική διάσπαση των σφαιροειδών με σιφώνιο πάνω-κάτω 5 έως 10 φορές χρησιμοποιώντας μια πιπέτα Eppendorf με μύτες φίλτρου 1000 μl. Μετά από αυτό, φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300g για 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου για τη σφαιροποίηση των κυττάρων. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό και ανασυστήστε το κυτταρικό σφαιρίδιο σε φρέσκο μέσο καλλιέργειας. Τέλος, μεταφέρετε τα ανασυσταθέντα κύτταρα σε νέα δοχεία καλλιέργειας για να προωθήσετε τον περαιτέρω σχηματισμό σφαιροειδών. Η προσέγγιση αυτή εξασφαλίζει την αποτελεσματική διάσπαση των σφαιροειδών και τα προετοιμάζει για συνεχή ανάπτυξη σε νέο περιβάλλον**Seeding density** 1×10^5 κύτταρα/mL**Fluid renewal** Κάθε 2 έως 3 ημέρες πρέπει να προστίθεται φρέσκο μέσο (2 έως 5 ml ανάλογα με το μέγεθος της φιάλης κυτταροκαλλιέργειας).**Post-Thaw Recovery** Αργά. Μετά την απόψυξη αφήστε τα κύτταρα να ανακάμψουν από τη διαδικασία κατάψυξης για τουλάχιστον 48 ώρες.

Κύτταρα NCH612 | 300121**Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε 50% βασικό μέσο + 40% FBS + 10% DMSO ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Κύτταρα NCH612 | 300121**Freezing Procedure**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA**αλληλόμορφα**

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