

Sel NCH612 | 300121

Informasi umum

Description

NCH612 adalah garis sel oligodendrositik yang berasal dari pasien yang berasal dari jaringan otak manusia dan berfungsi sebagai model penelitian yang relevan untuk oligodendroglioma anaplastik (WHO grade III). Garis sel ini mengandung mutasi IDH1 R132H, sebuah perubahan genetik yang sering dikaitkan dengan oligodendroglioma. Mutasi ini menyebabkan modifikasi epigenetik, termasuk fenotipe metilator pulau CpG glioma (G-CIMP), yang berkontribusi terhadap perkembangan dan perkembangan tumor. Khususnya, NCH612 menunjukkan penghapusan sebagian lengan kromosom 1p dan 19q, karakteristik genetik yang umumnya ditemukan pada oligodendroglioma dan terkait dengan prognosis dan respons yang lebih baik terhadap terapi tertentu.

Penelitian telah menunjukkan bahwa NCH612 sangat sensitif terhadap penghambat metiltransferase DNA decitabine (DAC). Pengobatan dengan DAC menghasilkan penurunan proliferasi sel dan pembentukan koloni, terutama melalui penurunan regulasi TERT (telomerase reverse transcriptase) dan peningkatan regulasi p21, penghambat kinase yang bergantung pada siklin yang terlibat dalam respons kerusakan DNA. Menariknya, sensitivitas ini tampaknya terkait dengan keberadaan mutasi IDH1 dan kodeletion 1p/19q, karena garis sel glioma mutan IDH1 lainnya tanpa penghapusan ini, seperti NCH1681, menunjukkan resistensi terhadap DAC. Temuan ini menunjukkan bahwa terapi epigenetik seperti DAC dapat menjadi sangat efektif pada oligodendroglioma anaplastik mutan IDH1 dengan kodelesi 1p/19q.

Investigasi molekuler lebih lanjut mengungkapkan bahwa pengobatan DAC dalam sel NCH612 mengarah pada pengayaan jalur yang terkait dengan replikasi DNA, regulasi siklus sel, dan fungsi lisosom, yang menjelaskan mekanisme kerja obat. Represi TERT oleh DAC dimediasi oleh p21, menekankan peran penting jalur ini dalam respons terhadap terapi epigenetik. Mengingat profil genetik dan epigenetiknya yang terdefinisi dengan baik, NCH612 mewakili model in vitro yang berharga untuk mempelajari biologi oligodendroglioma anaplastik dan untuk mengembangkan terapi yang ditargetkan yang ditujukan untuk tumor mutan IDH1 dengan kodelesi 1p/19q.

Organism Manusia

Tissue Otak

Disease Oligodendroglioma anaplastik, WHO grade III, mutan IDH1 (R132H)

Karakteristik

Age 39 tahun

Gender Laki-laki

Ethnicity Kaukasia

Growth properties Kultur spheroid

Sel NCH612 | 300121

Data Peraturan

Citation	NCH612 (Nomor katalog Cytion 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913

Data Biomolekuler

Penanganan

Culture Medium	DMEM: Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukosa, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natrium piruvat, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Nomor artikel Cytion 820400a)
Supplements	Suplemen media dengan 10% FBS, 5 mg/L Heparin, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L Insulin, 100 mg/L Transferin, 5,2 mikrogram/L Na-selenit, 6,3 mikrogram/L Progesteron, 161,1 mikrogram/L Putrescin, 50 mg/L Hydrocortison
Subculturing	Untuk subkultur kultur sferoid, mulailah dengan memisahkan sferoid secara mekanis melalui pemipetan ke atas dan ke bawah sebanyak 5 hingga 10 kali menggunakan pipet Eppendorf dengan ujung filter 1000 µl. Setelah itu, sentrifugasi campuran tersebut pada 300g selama 5 menit pada suhu kamar untuk memecah sel. Buang supernatan dan resuspensi pelet sel dalam media kultur segar. Terakhir, pindahkan sel yang telah diresuspensi ke dalam bejana kultur baru untuk mendorong pembentukan sferoid lebih lanjut. Pendekatan ini memastikan pemecahan sferoid yang efisien dan mempersiapkan mereka untuk pertumbuhan berkelanjutan di lingkungan baru
Seeding density	1×10^5 sel/mL
Fluid renewal	Media segar harus ditambahkan setiap 2 hingga 3 hari (2 hingga 5 ml tergantung pada ukuran labu kultur sel).
Post-Thaw Recovery	Lambat. Setelah pencairan, biarkan sel pulih dari proses pembekuan setidaknya selama 48 jam.
Freeze medium	Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan 50% media basal + 40% FBS + 10% DMSO, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel NCH612 | 300121

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada $300 \times g$ selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

**Freezing
Procedure**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

**Shipping
Conditions**

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel NCH612 | 300121

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel 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