

Komórki NCH612 | 300121

Informacje ogólne

Description

NCH612 to oligodendrocytarna linia komórkowa pochodząca od pacjenta, która wywodzi się z ludzkiej tkanki mózgowej i służy jako odpowiedni model badawczy dla oligodendroglejaka anaplastycznego (stopień III wg WHO). Ta linia komórkowa jest nosicielem mutacji IDH1 R132H, charakterystycznej zmiany genetycznej często związanej z oligodendroglejakami. Mutacja ta prowadzi do modyfikacji epigenetycznych, w tym fenotypu metylatora wysp CpG glejaka (G-CIMP), który przyczynia się do rozwoju i progresji nowotworu. W szczególności, NCH612 wykazuje częściową delecję ramion chromosomowych 1p i 19q, cechę genetyczną powszechnie występującą w oligodendroglejakach i związaną z lepszym rokowaniem i odpowiedzią na niektóre terapie.

Badania wykazały, że NCH612 jest szczególnie wrażliwy na inhibitor metylotransferazy DNA - decytabinę (DAC). Leczenie DAC skutkuje zmniejszoną proliferacją komórek i tworzeniem kolonii, głównie poprzez regulację w dół TERT (odwrotnej transkryptazy telomerazy) i regulację w górę p21, inhibitora kinazy zależnej od cyklin zaangażowanego w odpowiedź na uszkodzenie DNA. Co ciekawe, wrażliwość ta wydaje się być związana z obecnością zarówno mutacji IDH1, jak i kodelecji 1p/19q, ponieważ inne linie komórkowe glejaka z mutacją IDH1 bez tej delecji, takie jak NCH1681, wykazują oporność na DAC. Odkrycia te sugerują, że terapie epigenetyczne, takie jak DAC, mogą być szczególnie skuteczne w oligodendroglejakach anaplastycznych z mutacją IDH1 i kodelecją 1p/19q.

Dalsze badania molekularne ujawniły, że leczenie DAC w komórkach NCH612 prowadzi do wzbogacenia szlaków związanych z replikacją DNA, regulacją cyklu komórkowego i funkcją lizosomalną, rzucając światło na mechanizm działania leku. W represji TERT przez DAC pośredniczy p21, podkreślając krytyczną rolę tego szlaku w odpowiedzi na terapię epigenetyczną. Biorąc pod uwagę dobrze zdefiniowany profil genetyczny i epigenetyczny, NCH612 stanowi cenny model in vitro do badania biologii oligodendroglejaków anaplastycznych i opracowywania terapii celowanych ukierunkowanych na guzy z mutacją IDH1 z kodelecją 1p/19q.

Organism Człowiek

Tissue Mózg

Disease Oligodendroglejak anaplastyczny, stopień III wg WHO, mutacja IDH1 (R132H)

Charakterystyka

Age 39 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Growth properties Kultura sferoidalna

Dane regulacyjne

Komórki NCH612 | 300121

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

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 5 mg/L Heparyny, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L Insuliny, 100 mg/L Transferyny, 5,2 mikrogram/L Na-selenitu, 6,3 mikrogram/L Progesteronu, 161,1 mikrogram/L Putrescyny, 50 mg/L Hydrokortyzonu
Subculturing	W przypadku subkulturowania kultur sferoidalnych, należy rozpocząć od mechanicznej dysocjacji sferoidów poprzez pipetowanie w górę i w dół od 5 do 10 razy przy użyciu pipety Eppendorf z końcówkami filtrującymi 1000 µl. Następnie odwirować mieszaninę z prędkością 300 g przez 5 minut w temperaturze pokojowej w celu osuszenia komórek. Odrzucić supernatant i ponownie zawiesić osad komórek w świeżym podłożu hodowlanym. Na koniec przenieś ponownie zawieszony komórki do nowych naczyń hodowlanych, aby promować dalsze tworzenie sferoidów. Takie podejście zapewnia skuteczny rozpad sferoid i przygotowuje je do dalszego wzrostu w nowym środowisku
Split ratio	Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:5
Seeding density	1 x 10 ⁵ komórek/ml
Fluid renewal	Świeża pożywka musi być dodawana co 2-3 dni (2-5 ml w zależności od wielkości kolby do hodowli komórkowej).
Post-Thaw Recovery	Powolny. Po rozmrożeniu należy odczekać co najmniej 48 godzin, aby komórki mogły dojść do siebie po procesie zamrażania.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki NCH612 | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki NCH612 | 300121**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA**Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

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

Allele 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