

Celule NCH612 | 300121

Informații generale

Description

NCH612 este o linie celulară oligodendrocitică derivată de la pacienți care provine din țesut cerebral uman și servește drept model de cercetare relevant pentru oligodendrogliomul anaplastic (gradul III OMS). Această linie celulară adăpostește mutația IDH1 R132H, o alterare genetică caracteristică asociată frecvent cu oligodendrogliomul. Mutația duce la modificări epigenetice, inclusiv fenotipul de metilator al insulelor CpG din gliom (G-CIMP), care contribuie la dezvoltarea și progresia tumorală. În special, NCH612 prezintă o deleție parțială a brațelor cromozomiale 1p și 19q, o caracteristică genetică frecvent întâlnită la oligodendrogliome și asociată cu un prognostic și un răspuns mai bun la anumite terapii.

Studiile au demonstrat că NCH612 este deosebit de sensibil la inhibitorul de ADN metiltransferază decitabină (DAC). Tratatamentul cu DAC duce la reducerea proliferării celulare și a formării de colonii, în principal prin scăderea TERT (transcriptază inversă a telomerazei) și creșterea p21, un inhibitor al kinazei dependente de ciclin implicat în răspunsul la deteriorarea ADN. În mod interesant, această sensibilitate pare să fie legată de prezența atât a mutației IDH1, cât și a codeleției 1p/19q, deoarece alte linii celulare de gliom cu mutație IDH1 fără această deleție, cum ar fi NCH1681, prezintă rezistență la DAC. Aceste constatări sugerează că terapiile epigenetice precum DAC ar putea fi deosebit de eficiente în cazul oligodendrogliomelor anaplastice cu mutație IDH1 cu codeleție 1p/19q.

Investigații moleculare suplimentare arată că tratamentul cu DAC în celulele NCH612 duce la îmbogățirea căilor legate de replicarea ADN, reglarea ciclului celular și funcția lizozomală, punând în lumină mecanismul de acțiune al medicamentului. Represia TERT de către DAC este mediată de p21, subliniind rolul critic al acestei căi în răspunsul la terapia epigenetică. Având în vedere profilul său genetic și epigenetic bine definit, NCH612 reprezintă un model in vitro valoros pentru studierea biologiei oligodendrogliomelor anaplastice și pentru dezvoltarea de terapii țintite destinate tumorilor IDH1-mutante cu codeleție 1p/19q.

Organism

Om

Tissue

Creierul

Disease

Oligodendrogliom anaplastic, gradul III OMS, mutant IDH1 (R132H)

Caracteristici

Age

39 de ani

Gender

Masculin

Ethnicity

Caucazian

Growth properties

Cultura de sferoizi

Date de reglementare

Celule NCH612 | 300121

Citation	NCH612 (număr de catalog Cytion 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820400a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS, 5 mg/L Heparină, 20 ng/mL bFGF, 20 microgram/L EGF, 5 mg/L Insulină, 100 mg/L Transferină, 5,2 microgram/L Na-selenit, 6,3 microgram/L Progesteron, 161,1 microgram/L Putrescin, 50 mg/L Hidrocortison
Subculturing	Pentru subcultivarea culturilor de sferoizi, începeți prin disocierea mecanică a sferoizilor prin pipetări în sus și în jos de 5-10 ori folosind o pipetă Eppendorf cu vârfuri filtrante de 1000 µl. După aceasta, se centrifughează amestecul la 300 g timp de 5 minute la temperatura camerei pentru a peletiza celulele. Aruncați supernatantul și resuspendați peletul celular în mediu de cultură proaspăt. În cele din urmă, transferați celulele resuspendate în vase de cultură noi pentru a promova formarea de sferoizi. Această abordare asigură descompunerea eficientă a sferoizilor și le pregătește pentru continuarea creșterii într-un mediu nou
Seeding density	1 x 10 ⁵ celule/ml
Fluid renewal	Mediul proaspăt trebuie adăugat la fiecare 2 până la 3 zile (2 până la 5 ml în funcție de dimensiunea balonului de cultură celulară).
Post-Thaw Recovery	Încet. După decongelare, lăsați celulele să se refacă după procesul de congelare timp de cel puțin 48 de ore.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim 50% mediu bazal + 40% FBS + 10% DMSO sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule NCH612 | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule NCH612 | 300121

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.

Alele 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