

Bunky NCH612 | 300121**Všeobecné informácie****Description**

NCH612 je línia oligodendrocytárných buniek odvodená od pacienta, ktorá pochádza z ľudského mozgového tkaniva a slúži ako relevantný výskumný model pre anaplastický oligodendroglióm (WHO grade III). Táto bunková línia obsahuje mutáciu IDH1 R132H, charakteristickú genetickú zmenu, ktorá sa často spája s oligodendrogliómami. Mutácia vedie k epigenetickým modifikáciám vrátane fenotypu gliómového metylátora ostrovov CpG (G-CIMP), ktorý prispieva k rozvoju a progresii nádoru. NCH612 vykazuje najmä čiastočnú deléciu ramien chromozómu 1p a 19q, čo je genetická charakteristika, ktorá sa bežne vyskytuje u oligodendrogliómov a spája sa s lepšou prognózou a odpoveďou na určité terapie.

Štúdie preukázali, že NCH612 je obzvlášť citlivý na inhibítor metyltransferázy DNA decitabín (DAC). Liečba DAC vedie k zníženiu proliferácie buniek a tvorby kolónií, a to predovšetkým prostredníctvom zníženia regulácie TERT (telomerázovej reverznej transkriptázy) a zvýšenia regulácie p21, inhibítora cyklín-dependentnej kinázy, ktorý sa podieľa na reakcii na poškodenie DNA. Zaujímavé je, že táto citlivosť zrejme súvisí s prítomnosťou mutácie IDH1 aj s deléciou kódu 1p/19q, keďže iné bunkové línie gliómov s mutáciou IDH1 bez tejto delécie, ako napríklad NCH1681, vykazujú rezistenciu voči DAC. Tieto zistenia naznačujú, že epigenetické terapie, ako je DAC, by mohli byť obzvlášť účinné pri anaplastických oligodendrogliómoch s mutáciou IDH1 a kodeleciou 1p/19q.

Ďalšie molekulárne výskumy odhalili, že liečba DAC v bunkách NCH612 vedie k obohateniu dráh súvisiacich s replikáciou DNA, reguláciou bunkového cyklu a lyzozomálnou funkciou, čo vrhá svetlo na mechanizmus účinku lieku. Represia TERT pomocou DAC je sprostredkovaná p21, čo zdôrazňuje kritickú úlohu tejto dráhy v odpovedi na epigenetickú liečbu. Vzhľadom na dobre definovaný genetický a epigenetický profil predstavuje NCH612 cenný in vitro model na štúdium biológie anaplastických oligodendrogliómov a na vývoj cielenej terapie zameranej na IDH1-mutantné nádory s kodeleciou 1p/19q.

Organism Ľudské**Tissue** Mozog**Disease** Anaplastický oligodendroglióm, WHO stupeň III, mutácia IDH1 (R132H)**Charakteristika****Age** 39 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Growth properties** Sféroïdná kultúra**Regulačné údaje**

Bunky NCH612 | 300121**Citation** NCH612 (katalógové číslo Cytion 300121)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x913**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplníte médium o 10 % FBS, 5 mg/l heparínu, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramov/l EGF, 5 mg/l inzulínu, 100 mg/l transferínu, 5,2 mikrogramu/l Na-selenitu, 6,3 mikrogramu/l progesterónu, 161,1 mikrogramu/l putrescínu, 50 mg/l hydrokortínu**Subculturing** Pri subkultivácii sféroidných kultúr začnite mechanickou disociáciou sféroidov pipetovaním hore a dole 5 až 10-krát pomocou pipety Eppendorf s 1000 µl filtračnými špičkami. Potom zmes odstreďujte pri 300 g počas 5 minút pri izbovej teplote, aby sa bunky peletizovali. Supernatant zlikvidujte a pelety buniek znovu rozpustíte v čerstvom kultivačnom médiu. Nakoniec preneste resuspendované bunky do nových kultivačných nádob, aby ste podporili ďalšiu tvorbu sféroidov. Tento postup zabezpečuje účinný rozpad sféroidov a pripravuje ich na ďalší rast v novom prostredí**Seeding density** 1×10^5 buniek/ml**Fluid renewal** Každé 2 až 3 dni sa musí pridať čerstvé médium (2 až 5 ml v závislosti od veľkosti banky s bunkovou kultúrou).**Post-Thaw Recovery** Pomalé. Po rozmrazení nechajte bunky zotavovať sa z procesu zmrazovania aspoň 48 hodín.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky NCH612 | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky NCH612 | 300121

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

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