

Celice NCH612 | 300121

Splošne informacije

Description

NCH612 je oligodendrocitna celična linija, ki izvira iz človeškega možganskega tkiva in služi kot ustrezen raziskovalni model za anaplastični oligodendrogliom (razred III po WHO). Ta celična linija vsebuje mutacijo IDH1 R132H, značilno genetsko spremembo, ki je pogosto povezana z oligodendrogliomi. Mutacija povzroča epigenetske spremembe, vključno s fenotipom gliomskega metilatorja otokov CpG (G-CIMP), kar prispeva k razvoju in napredovanju tumorja. NCH612 ima delno delecijo kromosomskih rokavov 1p in 19q, kar je genetska značilnost, ki jo pogosto najdemo pri oligodendrogliomih in je povezana z boljšo prognozo in odzivom na nekatere terapije.

Študije so pokazale, da je NCH612 še posebej občutljiv na zaviralec metiltransferaze DNK desetiabin (DAC). Zdravljenje z DAC povzroči zmanjšano proliferacijo celic in nastajanje kolonij, predvsem zaradi znižanja regulacije TERT (telomerazne reverzne transkriptaze) in povečanja regulacije p21, inhibitorja ciklinsko odvisne kinaze, ki sodeluje pri odzivu na poškodbe DNK. Zanimivo je, da je ta občutljivost povezana z mutacijo IDH1 in kodno delecijo 1p/19q, saj so druge celične linije gliomov z mutacijo IDH1 brez te delecije, kot je NCH1681, odporne na DAC. Te ugotovitve kažejo, da bi lahko bila epigenetska zdravljenja, kot je DAC, še posebej učinkovita pri anaplastičnih oligodendrogliomih z mutacijo IDH1 in delecijo kode 1p/19q.

Nadaljnje molekularne raziskave razkrivajo, da zdravljenje z DAC v celicah NCH612 povzroči obogatitev poti, povezanih z replikacijo DNK, uravnavanjem celičnega cikla in lizosomskim delovanjem, kar osvetljuje mehanizem delovanja zdravila. Zatiranje TERT z DAC poteka prek p21, kar poudarja ključno vlogo te poti pri odzivu na epigenetsko zdravljenje. Zaradi dobro opredeljenega genetskega in epigenetskega profila predstavlja NCH612 dragocen in vitro model za preučevanje biologije anaplastičnih oligodendrogliomov in za razvoj ciljanih terapij, namenjenih tumorjem z mutantnim IDH1 in kodifikacijo 1p/19q.

Organism Človek

Tissue Možgani

Disease Anaplastični oligodendrogliom, WHO razred III, mutacija IDH1 (R132H)

Značilnosti

Age 39 let

Gender Moški

Ethnicity Kavkaški

Growth properties Sferoidna kultura

Regulativni podatki

Celice NCH612 | 300121

Citation NCH612 (kataloška številka Cytion 300121)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x913

Biomolekularni podatki

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 5 mg/L heparina, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramov/L EGF, 5 mg/L insulina, 100 mg/L transferina, 5,2 mikrograma/L Na-selenita, 6,3 mikrograma/L progesterona, 161,1 mikrograma/L putrescina, 50 mg/L hidrokortisona

Subculturing Pri subkultiviranju sferoidnih kultur začnite z mehansko disociacijo sferoidov s pipetiranjem gor in dol 5 do 10-krat z uporabo Eppendorfove pipete s 1000 µl filtrirnimi konicami. Nato mešanico centrifugirajte pri 300 g 5 minut pri sobni temperaturi, da se celice izločijo. Zavržite supernatant in ponovno suspendirajte celično pelet v svežem gojišču. Resuspendirane celice prenesite v nove posode za gojenje, da spodbudite nadaljnjo tvorbo sferoidov. Ta pristop zagotavlja učinkovito razgradnjo sferoidov in jih pripravi za nadaljnjo rast v novem okolju

Seeding density 1×10^5 celic/ml

Fluid renewal Sveže gojišče je treba dodajati vsake 2 do 3 dni (2 do 5 ml, odvisno od velikosti bučke za gojenje celic).

Post-Thaw Recovery Počasi. Po odmrzovanju pustite celice, da si opomorejo od zamrzovanja vsaj 48 ur.

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo 50 % osnovno gojišče + 40 % FBS + 10 % DMSO ali CM-1 (kataloška številka Cytion 800100), ki vsebuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, ki ga povzroča krio.

Celice NCH612 | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice NCH612 | 300121

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključuje z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli 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