

Клітини NCH612 | 300121

Загальна інформація

Description

NCH612 - це пацієнтська лінія олігодендрогліоцитарних клітин, яка походить з тканини головного мозку людини і слугує відповідною моделлю для дослідження анапластичної олігодендрогліоми (клас III за класифікацією WHO). Ця клітинна лінія містить мутацію IDH1 R132H, характерну генетичну зміну, яка часто асоціюється з олігодендрогліомами. Мутація призводить до епігенетичних модифікацій, включаючи фенотип гліомного CpG острівного метилатора (G-CIMP), що сприяє розвитку та прогресуванню пухлини. Зокрема, NCH612 демонструє часткову делецію плечей хромосом 1p і 19q - генетичну характеристику, яка часто зустрічається в олігодендрогліомах і асоціюється з кращим прогнозом і відповіддю на певні види терапії.

Дослідження показали, що NCH612 особливо чутлива до інгібітору ДНК-метилтрансферази децитабіну (DAC). Лікування ДАК призводить до зниження проліферації клітин та утворення колоній, в першу чергу через зниження регуляції TERT (зворотної транскриптази теломерази) та підвищення регуляції p21, інгібітора циклінзалежної кінази, що бере участь у реакції на пошкодження ДНК. Цікаво, що ця чутливість пов'язана з наявністю як мутації IDH1, так і делеції 1p/19q, оскільки інші клітинні лінії гліоми без цієї делеції, такі як NCH1681, демонструють резистентність до DAC. Ці дані свідчать про те, що епігенетична терапія, така як DAC, може бути особливо ефективною при IDH1-мутантних анапластичних олігодендрогліомах з делецією 1p/19q.

Подальші молекулярні дослідження показали, що лікування DAC у клітинах NCH612 призводить до збагачення шляхів, пов'язаних з реплікацією ДНК, регуляцією клітинного циклу та лізосомальною функцією, що проливає світло на механізм дії препарату. Репресія TERT за допомогою DAC опосередкована p21, що підкреслює критичну роль цього шляху у відповіді на епігенетичну терапію. Враховуючи чітко визначений генетичний та епігенетичний профіль, NCH612 є цінною моделлю *in vitro* для вивчення біології анапластичних олігодендрогліом та розробки таргетної терапії, спрямованої на IDH1-мутантні пухлини з делецією 1p/19q.

Organism Людина

Tissue Мозок

Disease Анапластична олігодендрогліома, III ступінь за WHO, мутант IDH1 (R132H)

Характеристики

Age 39 років

Gender Чоловік

Ethnicity Кавказець

Growth properties Сфероїдна культура

Клітини NCH612 | 300121

Нормативні дані

Citation	NCH612 (номер за каталогом Cytion 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO ₃ (цит. номер 820400a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS, 5 мг/л гепарину, 20 нг/мл bFGF, 20 мкг/л EGF, 5 мг/л інсуліну, 100 мг/л трансферину, 5,2 мкг/л Na-селеніту, 6,3 мкг/л прогестерону, 161,1 мкг/л путресцину, 50 мг/л гідрокортизону
Subculturing	Для субкультивування культур сфероїдів почніть з механічної дисоціації сфероїдів шляхом піпетування вгору і вниз 5-10 разів за допомогою піпетки Еппендорфа з фільтрувальними насадками на 1000 мкл. Після цього центрифугуйте суміш при 300g протягом 5 хвилин при кімнатній температурі, щоб осадити клітини. Відкиньте надосадову рідину і ресуспендуйте осад клітин у свіжому живильному середовищі. Нарешті, перенесіть ресуспендовані клітини в нові культуральне середовище, щоб сприяти подальшому утворенню сфероїдів. Цей підхід забезпечує ефективне розщеплення сфероїдів і готує їх до подальшого росту в новому середовищі
Seeding density	1 x 10 ⁵ клітин/мл
Fluid renewal	Свіже середовище необхідно додавати кожні 2-3 дні (2-5 мл залежно від розміру колби з культурою клітин).
Post-Thaw Recovery	Повільно. Після розморожування дайте клітинам відновитися після процесу заморожування протягом принаймні 48 годин.
Freeze medium	Як середовище криоконсервування ми використовуємо 50% базальне середовище + 40% FBS + 10% ДМСО або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для покращення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Клітини NCH612 | 300121

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини NSH612 | 300121

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

HLA алелі

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