

Tế bào NCH612 | 300121**Thông tin chung****Description**

NCH612 là dòng tế bào oligodendrocyte được phân lập từ mô não người, được sử dụng làm mô hình nghiên cứu phù hợp cho u oligodendroglioma ác tính (WHO độ III). Dòng tế bào này mang đột biến IDH1 R132H, một biến đổi di truyền đặc trưng thường liên quan đến u oligodendroglioma. Đột biến này dẫn đến các thay đổi biểu sinh, bao gồm biểu hiện methyl hóa đảo CpG của glioma (G-CIMP), góp phần vào sự phát triển và tiến triển của khối u. Đáng chú ý, NCH612 có sự thiếu hụt một phần của cánh tay nhiễm sắc thể 1p và 19q, một đặc điểm di truyền thường gặp trong u oligodendroglioma và liên quan đến tiên lượng tốt hơn và đáp ứng với một số liệu pháp.

Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng NCH612 đặc biệt nhạy cảm với chất ức chế methyltransferase DNA decitabine (DAC). Điều trị bằng DAC dẫn đến giảm sự phát triển tế bào và hình thành khối u, chủ yếu thông qua việc ức chế TERT (enzyme sao chép ngược telomerase) và kích hoạt p21, một chất ức chế kinase phụ thuộc cyclin tham gia vào phản ứng với tổn thương DNA. Điều thú vị là độ nhạy cảm này dường như liên quan đến sự hiện diện của cả đột biến IDH1 và sự mất đoạn 1p/19q, vì các dòng tế bào glioma đột biến IDH1 khác không có sự mất đoạn này, như NCH1681, cho thấy sự kháng thuốc đối với DAC. Các phát hiện này cho thấy các liệu pháp di truyền như DAC có thể đặc biệt hiệu quả trong các khối u oligodendroglioma ác tính có đột biến IDH1 kèm theo sự mất đoạn 1p/19q.

Các nghiên cứu phân tử sâu hơn cho thấy việc điều trị bằng DAC trên tế bào NCH612 dẫn đến sự gia tăng các con đường liên quan đến sao chép DNA, điều hòa chu kỳ tế bào và chức năng lysosome, giúp làm sáng tỏ cơ chế tác động của thuốc. Sự ức chế TERT bởi DAC được trung gian bởi p21, nhấn mạnh vai trò quan trọng của con đường này trong phản ứng với liệu pháp di truyền. Với hồ sơ di truyền và di truyền học rõ ràng, NCH612 là một mô hình in vitro quý giá để nghiên cứu sinh học của u oligodendroglioma ác tính và phát triển các liệu pháp nhằm mục tiêu vào các khối u có đột biến IDH1 và mất đoạn 1p/19q.

Organism

Con người

Tissue

Não

Disease

Uống não tế bào oligodendroglioma không biệt hóa, độ III theo phân loại WHO, đột biến IDH1 (R132H)

Đặc điểm**Age**

39 năm

Gender

Nam

Ethnicity

Người da trắng

Growth properties

Văn hóa hình cầu

Dữ liệu quy định

Tế bào NCH612 | 300121

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

Dữ liệu sinh học phân tử**Xử lý**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (tỷ lệ 1:1), chứa: 3,1 g/L glucose, chứa: 2,5 mM L-glutamine, chứa: 15 mM HEPES, chứa: 0,5 mM natri pyruvate, chứa: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820400a)
Supplements	Bổ sung vào môi trường nuôi cấy 10% FBS, 5 mg/L Heparin, 20 ng/mL bFGF, 20 microgam/L EGF, 5 mg/L Insulin, 100 mg/L Transferrin, 5,2 microgam/L Na-selenit, 6,3 microgam/L Progesteron, 161,1 microgam/L Putrescin, 50 mg/L Hydrocortinson
Subculturing	Để nuôi cấy lại các khối cầu, bắt đầu bằng cách tách rời các khối cầu một cách cơ học bằng cách hút lên và xuống 5 đến 10 lần bằng ống hút Eppendorf có đầu lọc 1000 µl. Sau đó, ly tâm hỗn hợp ở 300g trong 5 phút ở nhiệt độ phòng để tạo thành cặn tế bào. Loại bỏ dịch siêu âm và tái phân tán cặn tế bào trong môi trường nuôi cấy tươi. Cuối cùng, chuyển các tế bào đã tái phân tán vào các bình nuôi cấy mới để thúc đẩy quá trình hình thành khối cầu tiếp theo. Phương pháp này đảm bảo việc phân giải khối cầu hiệu quả và chuẩn bị cho chúng tiếp tục phát triển trong môi trường mới
Seeding density	1 x 10 ⁵ tế bào/mL
Fluid renewal	Phải thêm môi trường tươi mới mỗi 2 đến 3 ngày (2 đến 5 ml tùy thuộc vào kích thước của bình nuôi cấy tế bào).
Post-Thaw Recovery	Chậm. Sau khi rã đông, hãy để các tế bào phục hồi từ quá trình đông lạnh trong ít nhất 48 giờ.
Freeze medium	Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng hỗn hợp 50% môi trường cơ bản + 40% huyết thanh bò phôi (FBS) + 10% DMSO, hoặc CM-1 (mã sản phẩm 800100 của Cytion), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào NCH612 | 300121

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào NCH612 | 300121

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Các alen 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