Komórki NCH612

300121

NCH612 to oligodendrocytarna linia komórkowa pochodząca od pacjenta, która wywodzi się z ludzkiej tkanki mózgowej i służy jako odpowiedni model badawczy dla oligodendroglejaka anaplastycznego (stopień III wg WHO). Ta linia komórkowa jest nosicielem mutacji IDH1 R132H, charakterystycznej zmiany genetycznej często związanej z oligodendroglejakami. Mutacja ta prowadzi do modyfikacji epigenetycznych, w tym fenotypu metylatora wysp CpG glejaka (G-CIMP), który przyczynia się do rozwoju i progresji nowotworu. W szczególności, NCH612 wykazuje częściową delecję ramion chromosomowych 1p i 19q, cechę genetyczną powszechnie występującą w oligodendroglejakach i związaną z lepszym rokowaniem i odpowiedzią na niektóre terapie.
Badania wykazały, że NCH612 jest szczególnie wrażliwy na inhibitor metylotransferazy DNA - decytabinę (DAC). Leczenie DAC skutkuje zmniejszoną proliferacją komórek i tworzeniem kolonii, głównie poprzez regulację w dół TERT (odwrotnej transkryptazy telomerazy) i regulację w górę p21, inhibitora kinazy zależnej od cyklin zaangażowanego w odpowiedź na uszkodzenie DNA. Co ciekawe, wrażliwość ta wydaje się być związana z obecnością zarówno mutacji IDH1, jak i kodelecji 1p/19q, ponieważ inne linie komórkowe glejaka z mutacją IDH1 bez tej delecji, takie jak NCH1681, wykazują oporność na DAC. Odkrycia te sugerują, że terapie epigenetyczne, takie jak DAC, mogą być szczególnie skuteczne w oligodendroglejakach anaplastycznych z mutacją IDH1 i kodelecją 1p/19q.
Dalsze badania molekularne ujawniły, że leczenie DAC w komórkach NCH612 prowadzi do wzbogacenia szlaków związanych z replikacją DNA, regulacją cyklu komórkowego i funkcją lizosomalną, rzucając światło na mechanizm działania leku. W represji TERT przez DAC pośredniczy p21, podkreślając krytyczną rolę tego szlaku w odpowiedzi na terapię epigenetyczną. Biorąc pod uwagę dobrze zdefiniowany profil genetyczny i epigenetyczny, NCH612 stanowi cenny model in vitro do badania biologii oligodendroglejaków anaplastycznych i opracowywania terapii celowanych ukierunkowanych na guzy z mutacją IDH1 z kodelecją 1p/19q.

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

NCH612 to oligodendrocytarna linia komórkowa pochodząca od pacjenta, która wywodzi się z ludzkiej tkanki mózgowej i służy jako odpowiedni model badawczy dla oligodendroglejaka anaplastycznego (stopień III wg WHO). Ta linia komórkowa jest nosicielem mutacji IDH1 R132H, charakterystycznej zmiany genetycznej często związanej z oligodendroglejakami. Mutacja ta prowadzi do modyfikacji epigenetycznych, w tym fenotypu metylatora wysp CpG glejaka (G-CIMP), który przyczynia się do rozwoju i progresji nowotworu. W szczególności, NCH612 wykazuje częściową delecję ramion chromosomowych 1p i 19q, cechę genetyczną powszechnie występującą w oligodendroglejakach i związaną z lepszym rokowaniem i odpowiedzią na niektóre terapie.
Badania wykazały, że NCH612 jest szczególnie wrażliwy na inhibitor metylotransferazy DNA - decytabinę (DAC). Leczenie DAC skutkuje zmniejszoną proliferacją komórek i tworzeniem kolonii, głównie poprzez regulację w dół TERT (odwrotnej transkryptazy telomerazy) i regulację w górę p21, inhibitora kinazy zależnej od cyklin zaangażowanego w odpowiedź na uszkodzenie DNA. Co ciekawe, wrażliwość ta wydaje się być związana z obecnością zarówno mutacji IDH1, jak i kodelecji 1p/19q, ponieważ inne linie komórkowe glejaka z mutacją IDH1 bez tej delecji, takie jak NCH1681, wykazują oporność na DAC. Odkrycia te sugerują, że terapie epigenetyczne, takie jak DAC, mogą być szczególnie skuteczne w oligodendroglejakach anaplastycznych z mutacją IDH1 i kodelecją 1p/19q.
Dalsze badania molekularne ujawniły, że leczenie DAC w komórkach NCH612 prowadzi do wzbogacenia szlaków związanych z replikacją DNA, regulacją cyklu komórkowego i funkcją lizosomalną, rzucając światło na mechanizm działania leku. W represji TERT przez DAC pośredniczy p21, podkreślając krytyczną rolę tego szlaku w odpowiedzi na terapię epigenetyczną. Biorąc pod uwagę dobrze zdefiniowany profil genetyczny i epigenetyczny, NCH612 stanowi cenny model in vitro do badania biologii oligodendroglejaków anaplastycznych i opracowywania terapii celowanych ukierunkowanych na guzy z mutacją IDH1 z kodelecją 1p/19q.

Chusteczka	Mózg
Choroba	Oligodendroglejak anaplastyczny, stopień III wg WHO, mutacja IDH1 (R132H)

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Mężczyzna
Poziom bezpieczeństwa biologicznego	1

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

IDENTYFIKATORY

Źródło

NCH612 (numer katalogowy Cytion 300121)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_x913

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO3 (numer artykułu Cytion 820400a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Do pożywki należy dodać 5 mg/l heparyny, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramów/l EGF, 5 mg/l insuliny, 100 mg/l transferyny, 5,2 mikrograma/l selenitu sodu, 6,3 mikrograma/l progesteronu, 161,1 mikrograma/l putrescyny, 50 mg/l hydrokortyzonu

Hodowla komórek w subkulturze

W przypadku subkulturowania kultur sferoidalnych, należy rozpocząć od mechanicznej dysocjacji sferoidów poprzez pipetowanie w górę i w dół od 5 do 10 razy przy użyciu pipety Eppendorf z końcówkami filtrującymi 1000 µl. Następnie odwirować mieszaninę z prędkością 300 g przez 5 minut w temperaturze pokojowej w celu osuszenia komórek. Odrzucić supernatant i ponownie zawiesić osad komórek w świeżym podłożu hodowlanym. Na koniec przenieś ponownie zawieszone komórki do nowych naczyń hodowlanych, aby promować dalsze tworzenie sferoidów. Takie podejście zapewnia skuteczny rozpad sferoid i przygotowuje je do dalszego wzrostu w nowym środowisku

Gęstość wysiewu	1 x 10^5 komórek/ml
Odnawianie płynów	Świeża pożywka musi być dodawana co 2-3 dni (2-5 ml w zależności od wielkości kolby do hodowli komórkowej).
Powrót do stanu sprzed rozmrożenia	Powolny. Po rozmrożeniu należy odczekać co najmniej 48 godzin, aby komórki mogły dojść do siebie po procesie zamrażania.

Rozmrażanie i hodowla

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	39 lat
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi	Yes