

NCH612 rakud | 300121

Üldine teave

Description

NCH612 on patsiendist saadud oligodendrotsüütiline rakuliin, mis pärineb inimese ajukoos ja on anaplastilise oligodendroglioomi (WHO III aste) asjakohane uurimismudel. See rakuliin kannab IDH1 R132H mutatsiooni, mis on oligodendroglioomide puhul sageli esinev geneetiline muutus. Mutatsioon põhjustab epigeneetilisi muutusi, sealhulgas glioomi CpG-saarte metülaatori fenotüüpi (G-CIMP), mis aitab kaasa kasvaja arengule ja progresseerumisele. Eelkõige on NCH612 kromosoomi 1p ja 19q osaline deletsioon, mis on oligodendroglioomide puhul sageli esinev geneetiline omadus ja mida seostatakse parema prognoosi ja ravivastusega teatavatele ravimeetoditele.

Uuringud on näidanud, et NCH612 on eriti tundlik DNA-metüültransferaasi inhibiitori dekitabiini (DAC) suhtes. Ravi DACiga põhjustab rakkude proliferatsiooni ja kolooniate moodustumise vähenemist, peamiselt TERTi (telomeraasi pöördtranskriptaasi) allareguleerimise ja DNA-kahjustusreaktsioonis osaleva tsükliinist sõltuva kinaasi inhibiitori p21 ülereguleerimise kaudu. Huvitaval kombel näib see tundlikkus olevat seotud nii IDH1 mutatsiooni kui ka 1p/19q koodelatsiooni olemasoluga, kuna teised IDH1-mutatsiooniga glioomi rakuliinid, nagu NCH1681, on DAC suhtes resistentsed. Need leiud viitavad sellele, et epigeneetilised ravimeetodid, nagu DAC, võivad olla eriti tõhusad IDH1-mutantidega anaplastiliste oligodendroglioomide puhul, millel on 1p/19q koodelatsioon.

Edasised molekulaarsed uuringud näitavad, et DAC-ravi NCH612 rakkudes toob kaasa DNA replikatsiooni, rakutsükli reguleerimise ja lüsosomaalse funktsiooniga seotud radade rikastumise, mis heidab valgust ravimi toimemehhanismile. TERTi represseerimist DACi poolt vahendab p21, rõhutades selle raja kriitilist rolli epigeneetilisele ravile reageerimisel. Arvestades selle hästi määratletud geneetilist ja epigeneetilist profiili, on NCH612 väärtuslik in vitro mudel anaplastiliste oligodendroglioomide bioloogia uurimiseks ja IDH1-mutantidega 1p/19q-kodeeringuga kasvajatetele suunatud sihtotstarbeliste ravimeetodite väljatöötamiseks.

Organism Inimene

Tissue Aju

Disease Anaplastiline oligodendroglioom, WHO III aste, IDH1 mutant (R132H)

Omadused

Age 39 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Sfääriline kultuur

Regulatiivsed andmed

NCH612 rakud | 300121

Citation NCH612 (Cytioni katalooginumber 300121)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x913

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)

Supplements Keskkonda täiendatakse 10% FBS, 5 mg/L hepariini, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogrammi/L EGF, 5 mg/L insuliini, 100 mg/L transferrini, 5,2 mikrogrammi/L Na-seleniit, 6,3 mikrogrammi/L progesteron, 161,1 mikrogrammi/L putresiin, 50 mg/L hüdrokortison

Subculturing Sferoidikultuuride subkultuurimiseks alustage sferoidide mehaanilise dissotsiatsiooniga, kasutades Eppendorfi pipetti, millel on 1000 µl filtriootsikud, 5-10 korda üles-alla pipetiga. Pärast seda tsentrifugeerige segu 300 g juures 5 minutit toatemperatuuril, et rakud pelleteerida. Visake supernatant ära ja resuspenseerige rakupellet värskes kultuurkeskkonnas. Lõpuks kandke resuspendeeritud rakud uutesse kasvatusanumatesse, et soodustada edasist sferoidide moodustumist. Selline lähenemine tagab sferoidide tõhusa lagunemise ja valmistab neid ette jätkuvaks kasvuks uues keskkonnas

Seeding density 1×10^5 rakku/ml

Fluid renewal Värsket söötme tuleb lisada iga 2 kuni 3 päeva järel (2 kuni 5 ml sõltuvalt rakukultuurikolvi suuruselt).

Post-Thaw Recovery Aeglane. Pärast sulatamist laske rakkudel vähemalt 48 tundi külmutamisest taastuda.

Freeze medium Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

NCH612 rakud | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

NCH612 rakud | 300121

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

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