

NCH612-solut | 300121

Yleisiä tietoja

Description

NCH612 on potilaasta peräisin oleva oligodendrosyyttinen solulinja, joka on peräisin ihmisen aivokudoksesta ja toimii anaplastisen oligodendrogliooman (WHO:n aste III) merkityksellisenä tutkimusmallina. Tässä solulinjassa on IDH1 R132H -mutaatio, joka on tyypillinen geneettinen muutos, joka liittyy usein oligodendroglioomiin. Mutaatio johtaa epigeneettisiin muutoksiin, kuten gliooman CpG-saarekkeiden metylaattorifenotyypin (G-CIMP), joka edistää kasvaimen kehittymistä ja etenemistä. NCH612:lla on erityisesti kromosomivarsien 1p ja 19q osittainen deleetio, joka on geneettinen ominaisuus, jota esiintyy yleisesti oligodendroglioomissa ja joka liittyy parempaan ennusteeseen ja vasteeseen tietyille hoidoille.

Tutkimukset ovat osoittaneet, että NCH612 on erityisen herkkä DNA-metyylitransferaasin estäjälle dekitabiinille (DAC). DAC-hoito vähentää solujen lisääntymistä ja pesäkkeiden muodostumista, mikä johtuu ensisijaisesti TERT:n (telomeraasin käänteistranskriptaasi) alaregulaatiosta ja p21:n, DNA-vauriovasteeseen osallistuvan sykliini-riippuvaisen kinaasin estäjän, ylössäätelystä. Mielenkiintoista on, että tämä herkkyys näyttää liittyvän sekä IDH1-mutaatioon että 1p/19q-kodeleetioon, sillä muut IDH1-mutaatiota sisältävät gliomasolulinjat, joissa ei ole tätä deleetiota, kuten NCH1681, ovat resistenttejä DAC:lle. Nämä havainnot viittaavat siihen, että epigeneettiset hoitomuodot, kuten DAC, voisivat olla erityisen tehokkaita IDH1-mutaattisissa anaplastisissa oligodendroglioomissa, joissa on 1p/19q-kodeleetio.

Molekulaariset lisätutkimukset paljastavat, että DAC-hoito NCH612-soluissa johtaa DNA:n replikaatioon, solusyklin säätelyyn ja lysosomaaliseen toimintaan liittyvien reittien rikastumiseen, mikä valaisee lääkkeen vaikutusmekanismia. TERT:n tukahduttaminen DAC:n avulla tapahtuu p21:n välityksellä, mikä korostaa tämän reitin kriittistä roolia epigeneettisen hoidon vasteessa. Koska NCH612:n geneettinen ja epigeneettinen profiili on hyvin määritelty, se on arvokas in vitro -malli anaplastisten oligodendroglioomatyyppien biologian tutkimiseen ja IDH1-mutantteisiin kasvaimiin, joissa on 1p/19q-kodeleetio, suunnattujen kohdennettujen hoitojen kehittämiseen.

Organism Ihminen

Tissue Aivot

Disease Anaplastinen oligodendrogliooma, WHO-luokka III, IDH1-mutaatio (R132H)

Ominaisuudet

Age 39 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Palloviljely

NCH612-solut | 300121

Säätelytiedot

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | NCH612 (Cytionin luettelonumero 300121) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_x913 |

Biomolekyyli tiedot

Käsittely

| | |
|---------------------------|--|
| Culture Medium | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a) |
| Supplements | Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä, 5 mg/l hepariinilla, 20 ng/mL bFGF:llä, 20 mikrogrammaa/l EGF:llä, 5 mg/l insuliinilla, 100 mg/l transferrinilla, 5,2 mikrogrammaa/l Na-selenitillä, 6,3 mikrogrammaa/l progesteronilla, 161,1 mikrogrammaa/l putresiinillä, 50 mg/l hydrokortisonilla |
| Subculturing | Sferoidiviljelmien subkulturointi aloitetaan dissosioimalla sferoidit mekaanisesti pipetoimalla 5-10 kertaa ylös ja alas käyttäen Eppendorf-pipettiä, jossa on 1000 µl:n suodatinkärjet. Tämän jälkeen seos sentrifugoidaan 300 g:n pyörimisnopeudella 5 minuutin ajan huoneenlämmössä solujen pelletöimiseksi. Hävitä supernatantti ja suspendoi solupelletti uudelleen tuoreeseen kasvatusmediumiin. Siirretään lopuksi resuspendoidut solut uusiin kasvatusastioihin, jotta edistetään sferoidien muodostumista. Tällä lähestymistavalla varmistetaan sferoidien tehokas hajoaminen ja valmistellaan ne jatkamaan kasvuaan uudessa ympäristössä |
| Seeding density | 1 x 10 ⁵ solua/ml |
| Fluid renewal | Tuoretta elatusainetta on lisättävä 2-3 päivän välein (2-5 ml soluviljelypullon koosta riippuen). |
| Post-Thaw Recovery | Hitaasti. Sulatuksen jälkeen solujen on annettava toipua pakastusprosessista vähintään 48 tuntia. |
| Freeze medium | Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä. |

NCH612-solut | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

NCH612-solut | 300121

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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