

NCH612 sejtek | 300121

Általános információk

Description

Az NCH612 egy betegektől származó oligodendrocita sejtvonal, amely emberi agyszövetből származik, és az anaplasztikus oligodendroglioma (WHO III. fokozat) releváns kutatási modelljeként szolgál. Ez a sejtvonal az IDH1 R132H mutációt hordozza, amely az oligodendrogliómákhoz gyakran társuló jellegzetes genetikai elváltozás. A mutáció epigenetikai módosításokhoz vezet, beleértve a glióma CpG-sziget-metilátor fenotípust (G-CIMP), amely hozzájárul a tumor kialakulásához és progressziójához. Figyelemre méltó, hogy az NCH612 az 1p és 19q kromoszóma karok részleges delécióját mutatja, amely genetikai jellemző gyakran megtalálható az oligodendrogliómákban, és jobb prognózissal és bizonyos terápiákra való reagálással jár együtt.

Vizsgálatok kimutatták, hogy az NCH612 különösen érzékeny a DNS-metiltransferáz-gátló decitabinra (DAC). A DAC-kezelés a sejtek proliferációjának és kolóniaképződésének csökkenését eredményezi, elsősorban a TERT (telomeráz reverz transzkriptáz) downregulációja és a p21, a DNS-károsodási válaszban részt vevő ciklinfüggő kináz inhibitor felszabályozása révén. Érdekes módon úgy tűnik, hogy ez az érzékenység mind az IDH1 mutáció, mind az 1p/19q kódéció jelenlétéhez kapcsolódik, mivel más IDH1-mutáns glióma sejtvonalak, amelyek nem rendelkeznek ezzel a delécióval, mint például az NCH1681, rezisztenciát mutatnak a DAC-kal szemben. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az epigenetikai terápiák, mint például a DAC, különösen hatékonyak lehetnek az IDH1-mutáns anaplasztikus oligodendrogliómákban, amelyekben 1p/19q kódéció van.

További molekuláris vizsgálatok azt mutatják, hogy a DAC-kezelés az NCH612 sejtekben a DNS-replikációval, a sejtciklus szabályozásával és a lizoszómális működéssel kapcsolatos útvonalak feldúsulásához vezet, ami fényt derít a gyógyszer hatásmechanizmusára. A TERT DAC általi elnyomását a p21 közvetíti, hangsúlyozva ennek az útvonalnak az epigenetikai terápiára adott válaszban betöltött kritikus szerepét. Jól meghatározott genetikai és epigenetikai profilja miatt az NCH612 értékes in vitro modellt jelent az anaplasztikus oligodendrogliómák biológiájának tanulmányozásához és az 1p/19q kódécióval rendelkező IDH1-mutáns tumorokra irányuló célzott terápiák kifejlesztéséhez.

Organism Emberi

Tissue Agy

Disease Anaplasztikus oligodendroglioma, WHO III. fokozat, IDH1 mutáns (R132H)

Jellemzők

Age 39 év

Gender Férfi

Ethnicity Kaukázusi

Growth properties Szferoid kultúra

NCH612 sejtek | 300121

Szabályozási adatok

Citation	NCH612 (Cytion katalógusszám: 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 5 mg/L heparinnal, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogramm/L EGF, 5 mg/L inzulin, 100 mg/L transferrin, 5,2 mikrogramm/L Na-selenit, 6,3 mikrogramm/L progeszteron, 161,1 mikrogramm/L putreszcin, 50 mg/L hidrokortizon
Subculturing	A szferoidkultúrák szubkultiválásához kezdje a szferoidok mechanikus disszociációjával, 5-10 alkalommal történő fel-le pipettázással, 1000 µl-es szűrőhegyekkel ellátott Eppendorf pipettával. Ezt követően a sejtek pelletálásához centrifugálja az elegyet 300 g-nél 5 percre szobahőmérsékleten. Dobja el a felülúszót, és szuszpendálja újra a sejtetletet friss táptalajban. Végül a reszuszpendált sejteket helyezze át új tenyésztőedényekbe a további szferoidképződés elősegítése érdekében. Ez a megközelítés biztosítja a szferoidok hatékony lebomlását, és felkészíti őket az új környezetben történő további növekedésre
Seeding density	1 x 10 ⁵ sejt/ml
Fluid renewal	2-3 naponta friss tápfolyadékot kell hozzáadni (2-5 ml-t a sejttenyésztő lombik méretétől függően).
Post-Thaw Recovery	Lassú. A felolvasztás után hagyja, hogy a sejtek legalább 48 órán keresztül regenerálódjanak a fagyasztásból.
Freeze medium	A kriokonzerváláshoz 50%-os alapközeget + 40% FBS + 10% DMSO-t vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) használunk, amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regeneráció fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

NCH612 sejtek | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejttabletát 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonali folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

NCH612 sejtek | 300121

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

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