

NCH612 ląstelės | 300121

Bendra informacija

Description

NCH612 yra iš paciento gauta oligodendrocitinių ląstelių linija, kilusi iš žmogaus smegenų audinio ir naudojama kaip tinkamas anaplastinės oligodendrogliomos (PSO III laipsnio) tyrimų modelis. Ši ląstelių linija turi IDH1 R132H mutaciją, būdingą genetinį pokytį, dažnai susijusį su oligodendrogliomomis. Ši mutacija lemia epigenetines modifikacijas, įskaitant gliomos CpG salų metilinimo fenotipą (G-CIMP), kuris prisideda prie naviko vystymosi ir progresavimo. Pažymėtina, kad NCH612 pasižymi daline 1p ir 19q chromosomų ramsčių delecija - genetinė savybe, kuri dažnai aptinkama oligodendrogliomose ir siejama su geresne prognoze ir atsaku į tam tikrus gydymo būdus.

Tyrimai parodė, kad NCH612 yra ypač jautrus DNR metiltransferazės inhibitoriui decitabinui (DAC). Gydant DAC, sumažėja ląstelių proliferacija ir kolonijų formavimasis, visų pirma dėl TERT (telomerazės atvirkštinės transkriptazės) sumažėjimo ir nuo ciklino priklausomos kinazės inhibitoriaus p21, dalyvaujančio atsako į DNR pažeidimus procese, padidėjimo. Įdomu tai, kad šis jautrumas yra susijęs su IDH1 mutacija ir 1p/19q kodine delecija, nes kitos IDH1 mutavusios gliomos ląstelių linijos be šios delecijos, pavyzdžiui, NCH1681, yra atsparios DAC. Šios išvados rodo, kad epigenetiniai gydymo būdai, tokie kaip DAC, gali būti ypač veiksmingi IDH1 mutaciją turinčioms anaplastinėms oligodendrogliomoms su 1p/19q kodelecija.

Tolesni molekuliniai tyrimai atskleidė, kad gydant DAC NCH612 ląsteles, praturtinami su DNR replikacija, ląstelės ciklo reguliavimu ir lizosomine funkcija susiję keliai, o tai atskleidžia vaisto veikimo mechanizmą. TERT slopinimą DAC veikia p21, o tai rodo, kad šis kelias vaidina lemiamą vaidmenį reaguojant į epigenetinį gydymą. Atsižvelgiant į gerai apibrėžtą genetinį ir epigenetinį profilį, NCH612 yra vertingas in vitro modelis anaplastinių oligodendrogliomų biologijai tirti ir tikslinei terapijai, skirtai IDH1 mutavusiems navikams su 1p/19q kodu, kurti.

Organism Žmogus

Tissue Smegenys

Disease Anaplastinė oligodendroglioma, III PSO laipsnio, IDH1 mutacija (R132H)

Charakteristikos

Age 39 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukazičių

Growth properties Sferoidų kultūra

Reguliavimo duomenys

NCH612 ląstelės | 300121

Citation	NCH612 (Cytion katalogo numeris 300121)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_x913

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS, 5 mg/l heparino, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramų/l EGF, 5 mg/l insulino, 100 mg/l transferino, 5,2 mikrogramo/l Na-selenito, 6,3 mikrogramo/l progesterono, 161,1 mikrogramo/l putrescino, 50 mg/l hidrokortinsono
Subculturing	Sferoidines kultūras subkultūruoti pradėkite mechaniškai išskirdami sferoidus pipete 5-10 kartų aukštyn ir žemyn, naudodami "Eppendorf" pipetę su 1000 µl filtro antgaliais. Po to 5 minutes kambario temperatūroje centrifuguokite mišinį 300 g sukčių dažniu, kad ląstelės būtų išsklaidytos. Išmeskite supernatantą, o ląstelių granules vėl suberkite į šviežią terpę. Galiausiai resuspenduotas ląsteles perkelti į naujus kultūros indus, kad būtų skatinamas tolesnis sferoidų formavimasis. Šis metodas užtikrina veiksmingą sferoidų suskaidymą ir paruošia juos tolesniam augimui naujoje aplinkoje
Seeding density	1 x 10 ⁵ ląstelių/ml
Fluid renewal	Šviežios terpės reikia įpilti kas 2-3 dienas (2-5 ml, priklausomai nuo ląstelių kultūros kolbos dydžio).
Post-Thaw Recovery	Lėtas. Po atšildymo leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso bent 48 valandas.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

NCH612 ląstelės | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

NCH612 ląstelės | 300121

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

HLA aleliai

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