

NCH612 šūnas | 300121

Vispārīga informācija

Description

NCH612 ir no pacienta iegūta oligodendrocītisko šūnu līnija, kas iegūta no cilvēka smadzeņu audiem un kalpo kā atbilstošs anaplastiskās oligodendrogliomas (PVO III pakāpes) izpētes modelis. Šī šūnu līnija satur IDH1 R132H mutāciju, kas ir raksturīga ģenētiska izmaiņa, kura bieži saistīta ar oligodendrogliomām. Mutācija izraisa epigenētiskas modifikācijas, tostarp gliomas CpG salu metilatora fenotipu (G-CIMP), kas veicina audzēja attīstību un progresēšanu. NCH612 piemīt daļēja 1p un 19q hromosomu atzaru delecija, kas ir oligodendrogliomām bieži sastopama ģenētiska īpašība un ir saistīta ar labāku prognozi un atbildes reakciju uz noteiktām terapijām.

Pētījumi liecina, ka NCH612 ir īpaši jutīgs pret DNS metiltransferāzes inhibitoru decitabīnu (DAC). Ārstēšanas ar DAC rezultātā samazinās šūnu proliferācija un koloniju veidošanās, galvenokārt samazinot TERT (telomerāzes reversās transkriptāzes) un paaugstinot ciklīnneatkarīgās kināzes inhibitora p21, kas ir iesaistīts DNS bojājumu reakcijā, regulāciju. Interesanti, ka šī jutība, šķiet, ir saistīta gan ar IDH1 mutāciju, gan ar 1p/19q kodu, jo citas IDH1 mutantu gliomas šūnu līnijas bez šīs delecijas, piemēram, NCH1681, ir rezistentas pret DAC. Šie atklājumi liecina, ka tādas epigenētiskās terapijas kā DAC varētu būt īpaši efektīvas IDH1 mutantu anaplastiskām oligodendrogliomām ar 1p/19q kodu.

Turpmākie molekulārie pētījumi atklāj, ka DAC terapija NCH612 šūnās izraisa ar DNS replikāciju, šūnu cikla regulāciju un lizosomu funkciju saistītu ceļu bagātināšanos, tādējādi izgaismojot zāļu darbības mehānismu. TERT apspiešanu ar DAC nodrošina p21, uzsverot šī ceļa izšķirošo nozīmi reakcijā uz epigenētisko terapiju. Ņemot vērā labi definēto ģenētisko un epigenētisko profilu, NCH612 ir vērtīgs in vitro modelis anaplastisko oligodendrogliomu bioloģijas izpētei un mērķtiecīgas terapijas izstrādei, kas vērsta uz IDH1-mutantu audzējiem ar 1p/19q kodu.

Organism Cilvēks

Tissue Smadzenes

Disease Anaplastiskā oligodendroglioma, III PVO pakāpe, IDH1 mutācija (R132H)

Raksturojums

Age 39 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Growth properties Sferoīdu kultūra

Normatīvie dati

NCH612 šūnas | 300121

Citation NCH612 (Cytion kataloga numurs 300121)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_x913

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS, 5 mg/l heparīna, 20 ng/ml bFGF, 20 mikrogramu/l EGF, 5 mg/l insulīna, 100 mg/l transferīna, 5,2 mikrogramu/l Na-selenīta, 6,3 mikrogramu/l progesterona, 161,1 mikrogramu/l putrescīna, 50 mg/l hidrokortīnsona

Subculturing Sferoīdu kultūru subkultivēšanu sāciet, mehāniski sadalot sferoīdus ar pipetēm uz augšu un uz leju 5 līdz 10 reizes, izmantojot Eppendorf pipeti ar 1000 µl filtrējošiem uzgaļiem. Pēc tam istabas temperatūrā 5 minūtes centrifugē maisījumu ar 300 g, lai granulētu šūnas. Izmetiet supernatantu un atkārtoti suspendējiet šūnu pelīti svaigā barotnē. Visbeidzot pārvietojiet resuspendētās šūnas jaunās barotnēs, lai veicinātu sferoīdu veidošanos. Šāda pieeja nodrošina efektīvu sferoīdu sadalīšanos un sagatavo tās turpmākai augšanai jaunā vidē

Seeding density 1×10^5 šūnas/ml

Fluid renewal Svaiga barotne jāpievieno ik pēc 2-3 dienām (2 līdz 5 ml atkarībā no šūnu kultūras kolbas lieluma).

Post-Thaw Recovery Lēna. Pēc atkausēšanas ļaujiet šūnām vismaz 48 stundas atgūties no sasaldēšanas procesa.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

NCH612 šūnas | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

NCH612 šūnas | 300121

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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