

NCH612 Hücreleri | 300121

Genel bilgi

Description

NCH612, insan beyin dokusundan kaynaklanan ve anaplastik oligodendroglioma (WHO derece III) için ilgili bir araştırma modeli olarak hizmet eden, hastadan türetilmiş bir oligodendrositik hücre hattıdır. Bu hücre hattı, sıklıkla oligodendrogliomlarla ilişkilendirilen ayırt edici bir genetik değişiklik olan IDH1 R132H mutasyonunu barındırmaktadır. Mutasyon, tümör gelişimi ve ilerlemesine katkıda bulunan glioma CpG adası metilatör fenotipi (G-CIMP) de dahil olmak üzere epigenetik modifikasyonlara yol açar. Özellikle NCH612, oligodendrogliomlarda yaygın olarak bulunan ve daha iyi prognoz ve belirli tedavilere yanıt ile ilişkili genetik bir özellik olan 1p ve 19q kromozom kollarının kısmi bir delesyonunu sergiler.

Çalışmalar NCH612'nin DNA metiltransferaz inhibitörü desitabine (DAC) karşı özellikle hassas olduğunu göstermiştir. DAC ile tedavi, öncelikle TERT'in (telomeraz ters transkriptaz) aşağı regülasyonu ve DNA hasar yanıtında yer alan bir sikline bağımlı kinaz inhibitörü olan p21'in yukarı regülasyonu yoluyla hücre çoğalmasının ve koloni oluşumunun azalmasına neden olur. İlginç bir şekilde, bu hassasiyet hem IDH1 mutasyonunun hem de 1p/19q kodlamasının varlığıyla bağlantılı görünmektedir, çünkü NCH1681 gibi bu delesyona sahip olmayan diğer IDH1-mutant glioma hücre hatları DAC'ye direnç göstermektedir. Bu bulgular, DAC gibi epigenetik tedavilerin özellikle 1p/19q kodlamasına sahip IDH1-mutant anaplastik oligodendrogliomlarda etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Daha ileri moleküler incelemeler, NCH612 hücrelerinde DAC tedavisinin DNA replikasyonu, hücre döngüsü düzenlemesi ve lizozomal fonksiyonla ilgili yolların zenginleşmesine yol açarak ilacın etki mekanizmasına ışık tuttuğunu ortaya koymaktadır. TERT'in DAC tarafından baskılanmasına p21 aracılık eder ve bu yolağın epigenetik tedaviye yanıtındaki kritik rolünü vurgular. İyi tanımlanmış genetik ve epigenetik profili göz önüne alındığında, NCH612 anaplastik oligodendrogliomların biyolojisini incelemek ve 1p/19q kodlamasına sahip IDH1 mutant tümörlere yönelik hedefe yönelik tedaviler geliştirmek için değerli bir in vitro modeli temsil etmektedir.

Organism İnsan

Tissue Beyin

Disease Anaplastik oligodendroglioma, WHO derece III, IDH1 mutanı (R132H)

Özellikler

Age 39 yıl

Gender Erkek

Ethnicity Kafkas

Growth properties Sferoid kültür

Düzenleyici Veriler

NCH612 Hücreleri | 300121**Citation** NCH612 (Cytion katalog numarası 300121)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_x913**Biyomoleküler Veriler****Elleçleme****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3.1 g/L Glukoz, w: 2.5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0.5 mM Sodyum piruvat, w: 1.2 g/L NaHCO₃ (Cytion makale numarası 820400a)**Supplements** Ortama %10 FBS, 5 mg/L Heparin, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogram/L EGF, 5 mg/L İnsülin, 100 mg/L Transferrin, 5,2 mikrogram/L Na-selenit, 6,3 mikrogram/L Progesteron, 161,1 mikrogram/L Putrescin, 50 mg/L Hidrokortison ekleyin**Subculturing** Sferoid kültürleri alt kültüre almak için, 1000 µl filtre uçlu bir Eppendorf pipet kullanarak 5 ila 10 kez aşağı yukarı pipetleme yoluyla sferoidleri mekanik olarak ayırarak başlayın. Bundan sonra, hücreleri peletlemek için karışımı oda sıcaklığında 5 dakika boyunca 300g'de santrifüjleyin. Süpernatantı atın ve hücre peletini taze kültür ortamında yeniden süspansen edin. Son olarak, daha fazla sferoid oluşumunu teşvik etmek için yeniden süspansen edilen hücreleri yeni kültür kaplarına aktarın. Bu yaklaşım etkili sferoid parçalanmasını sağlar ve onları yeni bir ortamda sürekli büyümeye hazırlar**Seeding density** 1 x 10⁵ hücre/mL**Fluid renewal** Her 2-3 günde bir taze besiyeri eklenmelidir (hücre kültürü şişesinin boyutuna bağlı olarak 2 ila 5 ml).**Post-Thaw Recovery** Yavaş. Çözüldükten sonra hücrelerin en az 48 saat boyunca dondurma işleminden kurtulmasına izin verin.**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, iyileşmeyi artırmak ve kriyo kaynaklı stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren %50 bazal ortam + %40 FBS + %10 DMSO veya CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

NCH612 Hücreleri | 300121

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

NCH612 Hücreleri | 300121

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

HLA alelleri

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