NCH612-solut

300121

NCH612 on potilaasta peräisin oleva oligodendrosyyttinen solulinja, joka on peräisin ihmisen aivokudoksesta ja toimii anaplastisen oligodendroglioomana (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 glioman CpG-saarekkeiden metylaattorifenotyyppiin (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 glioomasolulinjat, joissa ei ole tätä deletiointia, 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 oligodendroglioomien biologian tutkimiseen ja IDH1-mutaatioita sisältäviin kasvaimiin, joissa on 1p/19q-koodeletio, suunnattujen kohdennettujen hoitojen kehittämiseen.

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

NCH612 on potilaasta peräisin oleva oligodendrosyyttinen solulinja, joka on peräisin ihmisen aivokudoksesta ja toimii anaplastisen oligodendroglioomana (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 glioman CpG-saarekkeiden metylaattorifenotyyppiin (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 glioomasolulinjat, joissa ei ole tätä deletiointia, 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 oligodendroglioomien biologian tutkimiseen ja IDH1-mutaatioita sisältäviin kasvaimiin, joissa on 1p/19q-koodeletio, suunnattujen kohdennettujen hoitojen kehittämiseen.

Kudos	Aivot
Sairaus	Anaplastinen oligodendroglioma, WHO-luokka III, IDH1-mutaatio (R132H)

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Mies
Bioturvallisuustaso	1

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

TUNNISTEET

Lähdeviite

NCH612 (Cytionin luettelonumero 300121)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_x913

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

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 NaHCO3 (Cytionin artikkelinumero 820400a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Lisää elatusaineeseen 5 mg/l hepariinia, 20 ng/ml bFGF:ää, 20 mikrogrammaa/l EGF:ää, 5 mg/l insuliinia, 100 mg/l transferriiniä, 5,2 mikrogrammaa/l natriumseleniittia, 6,3 mikrogrammaa/l progesteronia, 161,1 mikrogrammaa/l putreskiinia ja 50 mg/l hydrokortisonia.

Soluviljely

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

Kylvötiheys	1 x 10^5 solua/ml
Nesteen uusiminen	Tuoretta elatusainetta on lisättävä 2-3 päivän välein (2-5 ml soluviljelypullon koosta riippuen).
Sulamisen jälkeinen palautuminen	Hitaasti. Sulatuksen jälkeen solujen on annettava toipua pakastusprosessista vähintään 48 tuntia.

Sulatus ja viljely

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

Säilytysolosuhteet

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

Toimitusehdot

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.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	39 vuotta
Etnisyys	Kaukasialainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Sovelletaan kolmansien osapuolten kanssa tehtyjä sopimuksia	Yes