NCH612 šūnas

300121

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 transkriptazes) 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.

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

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 transkriptazes) 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.

Audums	Smadzenes
Slimība	Anaplastiskā oligodendroglioma, III PVO pakāpe, IDH1 mutācija (R132H)

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Vīrietis
Bioloģiskās drošības līmenis	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

IDENTIFIKATORI

Atsauce

NCH612 (Cytion kataloga numurs 300121)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_x913

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

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)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildiniet barotni ar 5 mg/L heparīna, 20 ng/mL bFGF, 20 mikrogramiem/L EGF, 5 mg/L insulīna, 100 mg/L transferīna, 5,2 mikrogramu/L nātrija selenīta, 6,3 mikrogramu/L progesterona, 161,1 mikrogramu/L putrescīna, 50 mg/L hidrokortizona

Pārstādīšana

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 pārvietot resuspendētās šūnas jaunos barotnēs, lai veicinātu sferoīdu veidošanos. Šāda pieeja nodrošina efektīvu sferoīdu sadalīšanos un sagatavo tās turpmākai augšanai jaunā vidē

Sēšanas blīvums	1 x 10^5 šūnas/ml
Šķidruma atjaunošana	Svaiga barotne jāpievieno ik pēc 2-3 dienām (2 līdz 5 ml atkarībā no šūnu kultūras kolbas lieluma).
Atgūšanās pēc atkusņa	Lēna. Pēc atkausēšanas ļaujiet šūnām vismaz 48 stundas atgūties no sasaldēšanas procesa.

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

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.

Saldēšanas barotne	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.

Uzglabāšanas nosacījumi

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

Piegādes nosacījumi

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

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	39 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Tiek piemēroti līgumi ar trešajām personām	Yes