

HROG06 T0 M2 Клетки | 300883

Обща информация

Description

HROG06 T0 M2 е първична клетъчна линия на мултиформен глиобластом (GBM) при хора, създадена от пряко резецирана туморна тъкан на възрастен пациент, диагностициран с глиобластом от степен IV по класификацията на СЗО. Означението „T0“ показва, че туморната проба е получена при първоначалната хирургична интервенция, докато „M2“ се отнася до втория независимо създаден *in vitro* модел, получен от същия първичен тумор. Клетъчната линия е разработена в рамките на платформата HROG (Hansestadt Rostock Glioma), която се фокусира върху създаването на култури от глиома с ултраниска пасаж, които запазват биологичните и молекулярните характеристики на оригиналния тумор на пациента.

HROG06 T0 M2 расте адхезивно при стандартизирани условия на култивиране и проявява типичната за първичните GBM култури морфология с форма на вретено, подобна на фибробластите. Имунотипните анализи в серията HROG демонстрират експресия на маркери на невроналния и глиалния произход, като глиален фибриларен киселинен протеин (GFAP), нестин и виментинин, което подкрепя астроцитния произход на тумора. Молекулярната характеристика в рамките на платформата HROG включва оценка на клинично значими биомаркери, като статуса на метилиране на промотора MGMT, амплификация на EGFR и мутационен профил на гени, включително TP53, IDH1/2, KRAS и BRAF, което потвърждава запазването на туморните геномни промени в култури с ранни пасажи.

HROG06 T0 M2 е използван за *in vitro* оценка на терапевтичните отговори на стандартните лечения на глиобластома, включително алкилиращи химиотерапевтични агенти, както и целеви инхибитори. Сравнителните анализи в рамките на колекцията HROG показват стабилна морфология, възпроизводима кинетика на растежа и последователни профили на чувствителност към лекарства в ранните пасажи, което подкрепя неговата пригодност като транслационен изследователски модел. Като клетъчна линия GBM с нисък пасаж, получена от пациент, HROG06 T0 M2 предоставя клинично значима платформа за изучаване на биологията на глиобластома, хетерогенността на тумора и механизмите на резистентност към лечението.

Organism Човек

Tissue Мозък

Disease Глиобластом

Характеристики

Ethnicity Кавказки

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Citation HROG06 T0 M2 (каталожен номер 300883 на Cytion)

HROG06 T0 M2 Клетки | 300883

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Биомолекулярни данни****Работа с****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме 50% базова среда + 40% FBS + 10% DMSO или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

HROG06 T0 M2 Клетки | 300883

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

HROG06 T0 M2 Клетки | 300883

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.