

HROG33 T0 M1 Клетки | 300878

Обща информация

Description

HROG33 T0 M1 е първична клетъчна линия на мултиформна глиобластома (GBM) при хора, създадена от прясно резецирана туморна тъкан на възрастна пациентка с глиобластома IV степен по класификацията на C3O, локализирана в лявата тилно-темпорална област. Означението „T0“ се отнася до първичния тумор при първоначалната диагноза, а „M1“ обозначава съответния *in vitro* модел, получен от този образец. Клетъчната линия е създадена като част от систематични усилия за създаване на култури с ултраниско пасиране на GBM от прясна и жизненоважно криоконсервирана туморна материя, с цел запазване на специфичните за пациента молекулярни и функционални характеристики.

HROG33 T0 M1 проявява адхезивен растеж с фибробластоподобна морфология, типична за първични GBM култури. Клетките образуват монослой и проявяват постоянна пролиферативна способност *in vitro*. В сравнителното проучване за установяване, двойките култури, получени от прясна и криоконсервирана туморна тъкан, не показаха значителни разлики в морфологията, кинетиката на растежа или реакцията към лекарства. Имунотипната характеристика на представителни HROG клетъчни линии демонстрира експресия на маркери, свързани с невронната линия, включително глиален фибриларен киселинен протеин (GFAP), нестин и виментинин, в съответствие с фенотип, произхождащ от глиом. Молекулярните анализи, извършени в серията HROG, включваха оценка на метилирането на промотора MGMT, амплификацията на EGFR и мутационния статус на TP53, IDH1/2, KRAS и BRAF, което подкрепя запазването на тумор-специфични геномни характеристики в установените култури.

Функционално, клетъчните линии, произхождащи от HROG, са оценени за чувствителност към стандартни и изследователски агенти, използвани в терапията на GBM, включително темозоломид, BCNU (кармустин), винкрестин и иматиниб. Профилите на реакцията към лекарствата на съвпадащите двойки клетъчни линии показаха стабилно и възпроизводимо фармакологично поведение след криоконсервация на тъканта. Като първичен GBM модел с ултраниска пасажна честота, HROG33 T0 M1 предоставя клинично значима *in vitro* система за изследване на биологията на глиобластома, прогнозиране на терапевтичния отговор и туморната хетерогенност, специфична за всеки пациент, като същевременно минимизира артефактите, свързани с дългосрочната непрекъсната адаптация на клетъчната линия.

Organism Човек

Tissue Мозък

Disease Глиобластом

Характеристики

Age 46 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

HROG33 T0 M1 Клетки | 300878

Growth properties

Придържачи се

Регулаторни данни

Citation HROG33 T0 M1 (каталожен номер 300878 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4U48

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.

HROG33 T0 M1 Клетки | 300878

**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.

HROG33 T0 M1 Клетки | 300878

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.