

Клетки HROG17 T1 M1 | 300875

Обща информация

Description

HROG17 T1 M1 е първична клетъчна линия на мултиформен глиобластом (GBM) при хора, създадена от туморна проба, резецирана от възрастен пациент, диагностициран с глиобластом от степен IV по класификацията на СЗО. Означението „T1“ показва, че пробата е получена при първата хирургична интервенция, а „M1“ обозначава съответния *in vitro* модел, получен от този тумор. Клетъчната линия е създадена в рамките на платформата HROG (Hansestadt Rostock Glioma), която се фокусира върху създаването на култури от глиоми с ултраниска пасажна честота, които запазват специфичните за пациента молекулярни и фенотипни характеристики.

HROG17 T1 M1 расте адхезивно при стандартни условия на култивиране и проявява фибропластоподобна морфология, типична за първични GBM култури. Имунофенотипната характеристика на линиите, произведени от HROG, демонстрира експресия на маркери, свързани с глиалния и невралния произход, като глиален фибриларен киселинен протеин (GFAP), нестин и виментинин, в съответствие с произхода на високостепенен астроцитен тумор. Молекулярното профилиране в колекцията HROG включва оценка на клинично значими параметри, като метилиране на промотора MGMT, статус на амплификация на EGFR и мутационен анализ на ключови гени, включително TP53, IDH1/2, KRAS и BRAF, което подкрепя запазването на тумор-специфични геномни промени в културата.

HROG17 T1 M1 е използван за оценка на чувствителността към стандартни средства за лечение на глиобластома, включително алкилиращи химиотерапевтични средства и допълнителни целеви съединения. Сравнителните анализи на моделите HROG показват, че културите с нисък пасаж поддържат стабилна морфология, кинетика на растежа и профили на реакция към лекарствата през ранните пасаж. Като модел на глиобластома с нисък пасаж, получен от пациент, HROG17 T1 M1 предоставя клинично значима *in vitro* платформа за изучаване на туморната биология, терапевтичната реакция и междутуморната хетерогенност при високостепенни глиоми.

Organism Човек

Tissue Мозък

Disease Глиобластом

Характеристики

Age 70 години

Gender Мъжки

Ethnicity Кавказки

Growth properties Придържащи се

Клетки HROG17 T1 M1 | 300875

Регулаторни данни

Citation	HROG17 T1 M1 (каталожен номер 300875 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FQ

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 NaHCO ₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	TrypLE Express, 37°C, 10 мин,
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.

Клетки HROG17 T1 M1 | 300875

**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 антимикробен 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.

Клетки HROG17 T1 M1 | 300875**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.

HLA алели

A*: '11:01:01, '66:01:01
B*: '14:02:01, '40:02:01
C*: '01:02:01, '08:02:01
DRB1*: '01:02:01, '12:01:01
DQA1*: '01:01:02, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPA1*: 0,04375, 0,084027778
DPB1*: '04:01:01, '11:01:01
E: '01:01, '01:03