

Buňky U251 MG/TMZ | 305884

Obecné informace

Description

U251 MG/TMZ je derivát lidské glioblastomové buněčné linie U251 MG rezistentní na temozolomid. Rodná linie U251 MG byla vytvořena z maligního gliomu dospělého pacienta a je široce používána jako model vysoce maligních astrocytárních nádorů. Buňky U251 MG/TMZ jsou generovány postupným, dlouhodobým vystavením mateřských buněk U251 MG rostoucím koncentracím temozolomidu (TMZ), standardního alkylujícího chemoterapeutického činidla používaného při léčbě glioblastomu. Tento selekční proces vede ke stabilnímu fenotypu charakterizovanému významně sníženou citlivostí na cytotoxicitu indukovanou TMZ ve srovnání s mateřskou linií.

Mechanisticky je rezistence na TMZ v buňkách U251 MG/TMZ běžně spojována s upregulací O6-methylguanin-DNA metyltransferázy (MGMT), zvýšenou schopností opravy poškození DNA, změnami v opravných drahách nesouladu a aktivací signálních kaskád podporujících přežití. Rezistentní buňky často vykazují sníženou apoptózu po expozici TMZ, se sníženou aktivací kaspázy a oslabeným zapojením mitochondriální dráhy. Další molekulární adaptace mohou zahrnovat dysregulaci signálních drah PI3K/AKT, MAPK, NF-κB nebo STAT3, jakož i změněnou expresi transportérů léčiv a markerů spojených se stemness, v závislosti na použitém selekčním protokolu.

Buňky U251 MG/TMZ si zachovávají adhezivní růst s astrocytární morfologií podobnou mateřské linii, ale vykazují vyšší hodnoty TMZ IC50 a trvalou proliferaci pod tlakem léku. Tento model je široce používán k výzkumu mechanismů získané chemoresistence, identifikaci biomarkerů předpovídajících terapeutickou odpověď a hodnocení nových kombinovaných strategií zaměřených na překonání rezistence na TMZ. Jako takový poskytuje U251 MG/TMZ klinicky relevantní in vitro platformu pro studium selhání léčby a terapeutické zranitelnosti u glioblastomu.

Organism Člověk**Tissue** Mozek**Disease** Astrocytom**Metastatic site** Místo primárního nádoru (mozek)**Applications** Výzkum rezistence glioblastomu na TMZ; mechanismy získané chemoresistence; nadměrná exprese genu MGMT; dráha opravy neshod DNA; signální dráha PI3K/AKT/MAPK/NF-κB podporující přežití; hodnocení látek překonávajících rezistenci na TMZ; modelování recidivy GBM; objev biomarkerů rezistence**Synonyms** U-251MG, U-251-MG, U-251_MG, U251-MG, U251MG, U-251, U251, U251n, U251N, 251 MG, 251MG

Charakteristika

Age 75 let**Gender** Muži

Buňky U251 MG/TMZ | 305884

Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Cell type	Gliové buňky (astrocytární)
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	U251 MG/TMZ (katalogové číslo Cytion 305884)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Není přiřazeno (U251 MG/TMZ je vybraná sublinie rezistentní na TMZ; rodičovská linie U251 MG CVCL_0021)
GMO Status	Žádná genetická modifikace; rezistence vůči TMZ získaná postupnou selekcí při rostoucích koncentracích TMZ (fenotyp nezískaný genetickou modifikací)

Biomolekulární data

Tumorigenic	SMRV: Negativní, potvrzeno metodou Real-Time PCR
Mutational profile	Odolný vůči TMZ

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium 10 % FBS a 50 µM temozolomidem (TMZ).
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	přibližně 36 až 48 hodin (sublinie rezistentní na TMZ se často množí pomaleji než mateřská linie)

Buňky U251 MG/TMZ | 305884**Split ratio** 1 až 3**Seeding density** 1 až 3×10^4 buněk/cm²**Fluid renewal** 2 až 3krát týdně**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.**Thawing and Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 200 x g po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaneho v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, zvlhčená atmosféra.**Flask Coating** Žádný**Shipping Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiwa, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky U251 MG/TMZ | 305884

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza