

## HROG06 T0 M2 Buňky | 300883

## Obecné informace

## Description

HROG06 T0 M2 je primární lidská buněčná linie glioblastoma multiforme (GBM) vytvořená z čerstvě resekované nádorové tkáně dospělého pacienta s diagnózou glioblastomu stupně IV podle klasifikace WHO. Označení „T0“ znamená, že vzorek nádoru byl získán při počátečním chirurgickém zákroku, zatímco „M2“ odkazuje na druhý nezávisle vytvořený in vitro model odvozený ze stejného primárního nádoru. Buněčná linie byla vyvinuta v rámci platformy HROG (Hansestadt Rostock Glioma), která se zaměřuje na vytváření gliomových kultur s extrémně nízkým počtem pasáží, které zachovávají biologické a molekulární vlastnosti původního nádoru pacienta.

HROG06 T0 M2 roste adhezivně za standardizovaných kultivačních podmínek a vykazuje vřetenovitou morfologii podobnou fibroblastům, která je typická pro primární kultury GBM. Imunofenotypové analýzy v rámci série HROG prokazují expresi markerů neurální a gliové linie, jako je gliový fibrilární kyselý protein (GFAP), nestin a vimentin, což podporuje astrocytární původ nádoru. Molekulární charakterizace v rámci platformy HROG zahrnuje hodnocení klinicky relevantních biomarkerů, jako je stav metylace promotoru MGMT, amplifikace EGFR a mutační profilování genů včetně TP53, IDH1/2, KRAS a BRAF, což potvrzuje zachování genomových změn spojených s nádorem v kulturách s nízkým počtem pasáží.

HROG06 T0 M2 byl použit pro in vitro hodnocení terapeutických odpovědí na standardní léčbu glioblastomu, včetně alkylujících chemoterapeutických látek a cílených inhibitorů. Srovnávací analýzy v rámci kolekce HROG ukazují stabilní morfologii, reprodukovatelnou kinetiku růstu a konzistentní profily citlivosti na léky v raných pasážích, což podporuje jeho vhodnost jako translačního výzkumného modelu. Jako buněčná linie GBM s nízkým počtem pasáží odvozená od pacienta poskytuje HROG06 T0 M2 klinicky relevantní platformu pro studium biologie glioblastomu, heterogenity nádoru a mechanismů rezistence na léčbu.

**Organism** Člověk

**Tissue** Mozek

**Disease** Glioblastom

## Charakteristika

**Ethnicity** Kavkazský

**Growth properties** Adherentní

## Regulační údaje

**Citation** HROG06 T0 M2 (katalogové číslo Cytion 300883)

**Biosafety level** 1

## HROG06 T0 M2 Buňky | 300883

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FP**Depositor** M. Linnebacher**Biomolekulární data****Zpracování****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

## HROG06 T0 M2 Buňky | 300883

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte 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 zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

### Freezing Procedure

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

## HROG06 T0 M2 Buňky | 300883

### Shipping Conditions

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

### 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 / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.