

HROG33 T0 M1 Buňky | 300878**Obecné informace****Description**

HROG33 T0 M1 je primární lidská buněčná linie glioblastoma multiforme (GBM) vytvořená z čerstvě resekované nádorové tkáně dospělé pacientky s glioblastomem stupně IV podle klasifikace WHO lokalizovaným v levé okcipitotemporální oblasti. Označení „T0“ odkazuje na primární nádor při počáteční diagnóze a „M1“ označuje odpovídající in vitro model odvozený z tohoto vzorku. Buněčná linie byla vytvořena v rámci systematického úsilí o vytvoření kultur GBM s extrémně nízkým počtem pasáží z čerstvého i vitálně kryokonzervovaného nádorového materiálu s cílem zachovat molekulární a funkční charakteristiky specifické pro daného pacienta.

HROG33 T0 M1 vykazuje adhezivní růst s morfologií podobnou fibroblastům, která je typická pro primární kultury GBM. Buňky tvoří monovrstvu a vykazují konzistentní proliferační schopnost in vitro. Ve srovnávací studii párových kultur odvozených z čerstvé a kryokonzervované nádorové tkáně nebyly zaznamenány žádné významné rozdíly v morfologii, růstové kinetice nebo reakci na léky. Imunofenotypová charakterizace reprezentativních buněčných linií HROG prokázala expresi markerů spojených s nervovou linií, včetně glial fibrillary acidic protein (GFAP), nestinu a vimentinu, což je v souladu s fenotypem odvozeným od gliomu. Molekulární analýzy provedené v celé sérii HROG zahrnovaly hodnocení metylace promotoru MGMT, amplifikace EGFR a mutačního stavu TP53, IDH1/2, KRAS a BRAF, což podporuje zachování nádorově specifických genomických rysů v ustavených kulturách.

Funkčně byly buněčné linie odvozené od HROG hodnoceny z hlediska citlivosti na standardní léčbu a experimentální látky používané v terapii GBM, včetně temozolomidu, BCNU (karmustinu), vinkristinu a imatinibu. Profily reakce na léky u párových buněčných linií vykazovaly stabilní a reprodukovatelné farmakologické chování po kryokonzervaci tkání. Jako primární model GBM s extrémně nízkým počtem pasáží poskytuje HROG33 T0 M1 klinicky relevantní in vitro systém pro výzkum biologie glioblastomu, predikci terapeutické odezvy a heterogenity nádoru specifické pro daného pacienta, přičemž minimalizuje artefakty spojené s dlouhodobou nepřetržitou adaptací buněčné linie.

Organism Člověk**Tissue** Mozek**Disease** Glioblastom**Charakteristika****Age** 46 let**Gender** Ženy**Ethnicity** Kavkazský**Growth properties** Adherentní

HROG33 T0 M1 Buňky | 300878

Regulační údaje

Citation	HROG33 T0 M1 (katalogové číslo Cytion 300878)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U48
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 ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adheovaných 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.

HROG33 T0 M1 Buňky | 300878

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 odstřeďte při $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

HROG33 T0 M1 Buňky | 300878

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 vizuálním kontrolám.