

HROG12 T0 M1 Buňky | 300882

Obecné informace

Description

HROG12 T0 M1 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 byl získán při počátečním chirurgickém zákroku, zatímco „M1“ odkazuje na odpovídající in vitro model odvozený z tohoto primárního nádoru. Buněčná linie byla vytvořena v rámci modelové platformy HROG (Hansestadt Rostock Glioma), která se zaměřuje na vytvoření gliomových kultur s extrémně nízkým počtem pasáží, které si zachovávají molekulární a biologické charakteristiky specifické pro daného pacienta.

HROG12 T0 M1 vykazuje adhezivní růst za standardních kultivačních podmínek a vykazuje fibroblastovou morfologii typickou pro primární kultury GBM. Imunofenotypová charakteristika buněčných linií odvozených od HROG prokazuje expresi markerů nervové a gliové linie, jako je gliový fibrilární kyselý protein (GFAP), nestin a vimentin, což podporuje astrocytární původ nádoru. V rámci kolekce HROG zahrnuje molekulární profilování hodnocení klinicky relevantních biomarkerů, jako je metylace promotoru MGMT, stav amplifikace EGFR a mutační analýza genů včetně TP53, IDH1/2, KRAS a BRAF, což potvrzuje zachování genomových alterací spojených s nádorem v kulturách s nízkým počtem pasáží.

HROG12 T0 M1 byl použit pro in vitro hodnocení terapeutických odpovědí na standardní léčbu glioblastomu, včetně alkylačních činidel, jakož i experimentálních cílených terapií. Srovnávací analýzy napříč modely HROG ukazují stabilní morfologii, reprodukovatelnou kinetiku růstu a konzistentní profily citlivosti na léky v raných pasážích. Jako model glioblastomu s nízkým počtem pasáží odvozený od pacienta poskytuje HROG12 T0 M1 klinicky relevantní platformu pro studium biologie nádoru, molekulární heterogenity a mechanismů terapeutické rezistence u vysoce maligních gliomů.

Organism Člověk**Tissue** Mozek**Disease** Glioblastom

Charakteristika

Ethnicity Kavkazský**Growth properties** Adherentní

Regulační údaje

Citation HROG12 T0 M1 (katalogové číslo Cytion 300882)**Biosafety level** 1

HROG12 T0 M1 Buňky | 300882

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FR**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 NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplněte 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.

HROG12 T0 M1 Buňky | 300882**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 odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
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 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**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.

**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.

HROG12 T0 M1 Buňky | 300882

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

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.