

**HROG17 T1 M1 Buňky | 300875****Obecné informace****Description**

HROG17 T1 M1 je primární lidská buněčná linie glioblastoma multiforme (GBM) vytvořená z nádorového vzorku odebraného dospělému pacientovi s diagnózou glioblastomu stupně IV podle klasifikace WHO. Označení „T1“ znamená, že vzorek byl odebrán při prvním chirurgickém zákroku, zatímco „M1“ označuje odpovídající in vitro model odvozený z tohoto nádoru. Buněčná linie byla vytvořena v rámci platformy HROG (Hansestadt Rostock Glioma), která se zaměřuje na vytvoření gliomových kultur s extrémně nízkým počtem pasáží, které zachovávají molekulární a fenotypové charakteristiky specifické pro daného pacienta.

HROG17 T1 M1 roste adhezivně za standardních kultivačních podmínek a vykazuje fibroblastovou morfologii typickou pro primární kultury GBM. Imunofenotypová charakteristika linií odvozených od HROG prokazuje expresi markerů spojených s gliovou a neurální linií, jako je gliový fibrilární kyselý protein (GFAP), nestin a vimentin, což je v souladu s původem z vysoce maligního astrocytárního nádoru. Molekulární profilování v rámci kolekce HROG zahrnuje hodnocení klinicky relevantních parametrů, jako je metylace promotoru MGMT, stav amplifikace EGFR a mutační analýza klíčových genů, včetně TP53, IDH1/2, KRAS a BRAF, což podporuje zachování nádorově specifických genomových alterací v kultuře.

HROG17 T1 M1 byl použit k hodnocení citlivosti na standardní léčiva pro glioblastom, včetně alkylujících chemoterapeutik a dalších cílených sloučenin. Srovnávací analýzy napříč modely HROG ukazují, že kultury s nízkým počtem pasáží si zachovávají stabilní morfologii, kinetiku růstu a profily reakce na léky během prvních pasáží. Jako model glioblastomu s nízkým počtem pasáží odvozený od pacienta poskytuje HROG17 T1 M1 klinicky relevantní in vitro platformu pro studium biologie nádoru, terapeutické reakce a intertumorální heterogenity u vysoce maligních gliomů.

**Organism** Člověk**Tissue** Mozek**Disease** Glioblastom**Charakteristika****Age** 70 let**Gender** Muži**Ethnicity** Kavkazský**Growth properties** Adherentní**Regulační údaje**

**HROG17 T1 M1 Buňky | 300875**

<b>Citation</b>	HROG17 T1 M1 (katalogové číslo Cytion 300875)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FQ
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

**Biomolekulární data****Zpracování**

<b>Culture Medium</b>	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)
<b>Supplements</b>	Doplňte médium o 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	TrypLE Express, 37 °C, 10 min,
<b>Subculturing</b>	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 rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
<b>Freeze medium</b>	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.

**HROG17 T1 M1 Buňky | 300875****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**

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.

**HROG17 T1 M1 Buňky | 300875****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.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 10,12  
**D13S317:** 11  
**D16S539:** 13  
**D5S818:** 9,12  
**D7S820:** 7,8  
**TH01:** 6  
**TPOX:** 9  
**vWA:** 14,17  
**D3S1358:** 15,17  
**D21S11:** 29,32.2  
**D18S51:** 16  
**Penta E:** 9,16  
**Penta D:** 12  
**D8S1179:** 15,16  
**FGA:** 21  
**D1S1656:** 17,17.3  
**D6S1043:** 12,14  
**D2S1338:** 19,25  
**D12S391:** 22,23  
**D19S433:** 12

**Alely HLA**

**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