

HROG33 T0 M1 Zellen | 300878

Allgemeine Informationen

Description

HROG33 T0 M1 ist eine primäre humane Glioblastoma multiforme (GBM)-Zelllinie, die aus frisch reseziertem Tumorgewebe einer erwachsenen Patientin mit einem Glioblastom des WHO-Grades IV in der linken okzipitotemporalen Region etabliert wurde. Die Bezeichnung „T0“ bezieht sich auf den Primärtumor bei der Erstdiagnose, und „M1“ bezeichnet das entsprechende In-vitro-Modell, das aus dieser Probe gewonnen wurde. Die Zelllinie wurde im Rahmen einer systematischen Bemühung zur Etablierung von GBM-Kulturen mit extrem niedriger Passagenzahl aus frischem und vital kryokonserviertem Tumormaterial erzeugt, mit dem Ziel, patientenspezifische molekulare und funktionelle Eigenschaften zu erhalten.

HROG33 T0 M1 weist ein adhärentes Wachstum mit einer für primäre GBM-Kulturen typischen fibroblastenähnlichen Morphologie auf. Die Zellen bilden eine Monoschicht und zeigen in vitro eine konsistente Proliferationsfähigkeit. In der vergleichenden Etablierungsstudie zeigten gepaarte Kulturen, die aus frischem und kryokonserviertem Tumorgewebe gewonnen wurden, keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf Morphologie, Wachstumskinetik oder Arzneimittelwirksamkeit. Die immunphänotypische Charakterisierung repräsentativer HROG-Zelllinien zeigte die Expression von Markern, die mit der neuronalen Abstammungslinie assoziiert sind, darunter gliales fibrilläres saures Protein (GFAP), Nestin und Vimentin, was mit einem von einem Gliom abgeleiteten Phänotyp übereinstimmt. Die molekularen Analysen, die für die gesamte HROG-Serie durchgeführt wurden, umfassten die Bewertung der MGMT-Promotor-Methylierung, der EGFR-Amplifikation und des Mutationsstatus von TP53, IDH1/2, KRAS und BRAF, was die Beibehaltung tumorspezifischer genomischer Merkmale in etablierten Kulturen bestätigt.

Funktionell wurden HROG-abgeleitete Zelllinien auf ihre Empfindlichkeit gegenüber Standardtherapien und Prüfpräparaten für die GBM-Therapie untersucht, darunter Temozolomid, BCNU (Carmustin), Vincristin und Imatinib. Die Arzneimittelreaktionsprofile der passenden Zelllinienpaare zeigten ein stabiles und reproduzierbares pharmakologisches Verhalten nach der Kryokonservierung des Gewebes. Als primäres GBM-Modell mit extrem geringer Passagenzahl bietet HROG33 T0 M1 ein klinisch relevantes In-vitro-System zur Untersuchung der Biologie des Glioblastoms, zur Vorhersage des Ansprechens auf Therapien und zur Untersuchung der patientenspezifischen Tumorerheterogenität, während gleichzeitig Artefakte im Zusammenhang mit einer langfristigen kontinuierlichen Anpassung der Zelllinie minimiert werden.

Organism Menschen

Tissue Gehirn

Disease Glioblastom

Merkmale

Age 46 Jahre

Gender Weiblich

Ethnicity Kaukasisch

HROG33 T0 M1 Zellen | 300878

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation HROG33 T0 M1 (Cytion Katalognummer 300878)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4U48

Depositor M. Linnebacher

Biomolekulare Daten**Handhabung**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820400a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir 50 % Basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO oder CM-1 (Cytion-Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektiva und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und den kryoinduzierten Stress zu verringern.

HROG33 T0 M1 Zellen | 300878

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HROG33 T0 M1 Zellen | 300878

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.