

Κύτταρα HROG33 T0 M1 | 300878

Γενικές πληροφορίες

Description

Το HROG33 T0 M1 είναι μια πρωτογενής κυτταρική σειρά πολυμορφικού γλοιοβλαστώματος (GBM) που δημιουργήθηκε από πρόσφατα εκτομωμένο ιστό όγκου μιας ενήλικης γυναίκας με γλοιοβλάστωμα βαθμού IV κατά WHO, το οποίο εντοπίστηκε στην αριστερή ινιακή-κροταφική περιοχή. Ο χαρακτηρισμός «T0» αναφέρεται στον πρωτοπαθή όγκο κατά την αρχική διάγνωση, ενώ «M1» υποδηλώνει το αντίστοιχο in vitro μοντέλο που προέρχεται από αυτό το δείγμα. Η κυτταρική σειρά δημιουργήθηκε στο πλαίσιο μιας συστηματικής προσπάθειας για τη δημιουργία καλλιιεργιών GBM εξαιρετικά χαμηλού περάσματος από φρέσκο και ζωτικά κρυσταλλωμένο υλικό όγκου, με στόχο τη διατήρηση των μοριακών και λειτουργικών χαρακτηριστικών του συγκεκριμένου ασθενούς.

Το HROG33 T0 M1 εμφανίζει προσκολλητική ανάπτυξη με μορφολογία τύπου ινοβλαστών, χαρακτηριστική των πρωτογενών καλλιιεργιών GBM. Τα κύτταρα σχηματίζουν μονοστρωματικό στρώμα και εμφανίζουν σταθερή ικανότητα πολλαπλασιασμού in vitro. Στη συγκριτική μελέτη καθιέρωσης, οι ζευγαρωμένες καλλιιεργειες που προέρχονταν από φρέσκο και κρυσταλλωμένο καρκινικό ιστό δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στη μορφολογία, την κινητική ανάπτυξης ή την ανταπόκριση στα φάρμακα. Ο ανοσοφαινοτυπικός χαρακτηρισμός των αντιπροσωπευτικών κυτταρικών σειρών HROG έδειξε έκφραση δεικτών που σχετίζονται με τη νευρική καταγωγή, συμπεριλαμβανομένων της γλοιακής ινώδους όξινης πρωτεΐνης (GFAP), της νεστίνης και της βιμεντίνης, σύμφωνα με έναν φαινότυπο που προέρχεται από γλοίωμα. Οι μοριακές αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν σε όλη τη σειρά HROG περιελάμβαναν την αξιολόγηση της μεθυλίωσης του προαγωγού MGMT, της ενίσχυσης του EGFR και της μεταλλακτικής κατάστασης των TP53, IDH1/2, KRAS και BRAF, υποστηρίζοντας τη διατήρηση των γονιδιωματικών χαρακτηριστικών που είναι ειδικά για τον όγκο στις καθιερωμένες καλλιιεργειες.

Λειτουργικά, οι κυτταρικές σειρές που προέρχονται από HROG έχουν αξιολογηθεί ως προς την ευαισθησία τους σε φάρμακα που χρησιμοποιούνται ως πρότυπη θεραπεία και σε ερευνητικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του GBM, συμπεριλαμβανομένων των τεμοζολομίδης, BCNU (καρμουστίνη), βινκριστίνης και ιματινίμπης. Τα προφίλ ανταπόκρισης στα φάρμακα των ζευγών κυτταρικών σειρών που αντιστοιχούν μεταξύ τους έδειξαν σταθερή και αναπαραγωγίμη φαρμακολογική συμπεριφορά μετά την κρυσταλλωμένη ιστών. Ως μοντέλο πρωτογενούς GBM εξαιρετικά χαμηλής διέλευσης, το HROG33 T0 M1 παρέχει ένα κλινικά σχετικό in vitro σύστημα για τη διερεύνηση της βιολογίας του γλοιοβλαστώματος, την πρόβλεψη της θεραπευτικής απόκρισης και την ετερογένεια του όγκου σε κάθε ασθενή, ελαχιστοποιώντας παράλληλα τα τεχνητά φαινόμενα που σχετίζονται με τη μακροχρόνια συνεχή προσαρμογή της κυτταρικής σειράς.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Εγκέφαλος

Disease Γλοιοβλάστωμα

Χαρακτηριστικά

Age 46 χρόνια

Gender Γυναίκα

Κύτταρα HROG33 T0 M1 | 300878

Ethnicity Καυκάσιος

Growth properties Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation HROG33 T0 M1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300878)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4U48

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε 50% βασικό μέσο + 40% FBS + 10% DMSO ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HROG33 T0 M1 | 300878**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HROG33 T0 M1 | 300878

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.