

HROG06 T0 M2 rakud | 300883

Üldine teave

Description

HROG06 T0 M2 on primaarne inimese glioblastoma multiforme (GBM) rakuliin, mis on loodud WHO IV astme glioblastomaga diagnoositud täiskasvanud patsiendi värskest eemaldatud kasvajakoeist. Tähis „T0” näitab, et kasvajaproov võeti esialgse kirurgilise sekkumise käigus, samas kui „M2” viitab teisele iseseisvalt loodud in vitro mudelile, mis on saadud samast esmasest kasvajast. Rakuliin arendati HROG (Hansestadt Rostock Glioma) platvormi raames, mis keskendub ultra-madala passaažiga glioomikultuuride loomisele, mis säilitavad patsiendi algse kasvaja bioloogilised ja molekulaarsed omadused.

HROG06 T0 M2 kasvab standardiseeritud kultiveerimistingimustes adhesiivselt ja näitab esmasele GBM-kultuurile tüüpilist spindlikujulist, fibroblastidele sarnast morfoloogiat. HROG-seeria immunofenotüübilised analüüsid näitavad närvi- ja gliaalsete markerite, nagu gliaalsete fibrillaarse happelise valgu (GFAP), nestini ja vimentiini ekspressiooni, mis toetab astrotsüütide kasvaja päritolu. HROG platvormi molekulaarne iseloomustus hõlmab kliiniliselt oluliste biomarkerite hindamist, nagu MGMT promootori metüülatsioonistaatus, EGFR amplifikatsioon ja geenide mutatsiooniprofiil, sealhulgas TP53, IDH1/2, KRAS ja BRAF, mis kinnitab kasvajaga seotud genoomiliste muutuste säilimist varajastes kultuurides.

HROG06 T0 M2 on kasutatud in vitro hindamiseks ravivastustele glioblastoomi standardravile, sealhulgas alküülivate kemoteraapiavahendite ja sihtinhibiitorite puhul. HROG-kogumiku võrdlevad analüüsid näitavad stabiilset morfoloogiat, reprodutseeritavat kasvukineetikat ja järjepidevaid ravimite tundlikkuse profiile varastes passaažides, mis toetab selle sobivust translatsioonilise uurimismudelina. Patsiendilt saadud madala passaažiga GBM-rakuliinina pakub HROG06 T0 M2 kliiniliselt olulist platvormi glioblastoomi bioloogia, kasvaja heterogeensuse ja ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Aju

Disease Glioblastoom

Omadused

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HROG06 T0 M2 (Cytioni katalooginumber 300883)

Biosafety level 1

HROG06 T0 M2 rakud | 300883**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Freeze medium** Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

HROG06 T0 M2 rakud | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HROG06 T0 M2 rakud | 300883

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.