

HROG33 T0 M1 rakud | 300878

Üldine teave

Description

HROG33 T0 M1 on primaarne inimese glioblastoma multiforme (GBM) rakuliin, mis on loodud täiskasvanud naispatsiendi värskest eemaldatud kasvajakoeist, kellel oli WHO IV astme glioblastoma vasakus okcipito-temporaalses piirkonnas. Tähis „T0” viitab esmasele kasvajale esialgse diagnoosi ajal ja „M1” tähistab sellest proovist saadud vastavat in vitro mudelit. Rakuliin loodi osana süstemaatilise tööst, mille eesmärk oli luua ultra-madala passaažiga GBM kultuurid nii värskest kui ka eluliselt krüokonserveeritud kasvajamaterjalist, et säilitada patsiendispetsiifilised molekulaarsed ja funktsionaalsed omadused.

HROG33 T0 M1 näitab adhesiivset kasvu fibroblastide-sarnase morfoloogiaga, mis on tüüpiline esmaste GBM-kultuuride puhul. Rakud moodustavad ühekihilise kihi ja näitavad in vitro ühtlast proliferatiivset võimet. Võrdlevas uuringus ei näidanud värskest ja krüokonserveeritud kasvajakoeist saadud paarikultuurid olulisi erinevusi morfoloogias, kasvukineetikas ega ravimireaktsioonis. Esinduslike HROG rakuliinide immunofenotüübiline iseloomustus näitas närvisüsteemiga seotud markerite, sealhulgas gliaalsete fibrillaarse happelise valguga (GFAP), nestini ja vimentini ekspressiooni, mis on kooskõlas glioomist saadud fenotüübiga. HROG seeria molekulaaranalüüsid hõlmasid MGMT promotori metülatiooni, EGFR amplifikatsiooni ja TP53, IDH1/2, KRAS ja BRAF mutatsioonide staatuse hindamist, mis toetasid kasvajaspetsiifiliste genoomiliste omaduste säilimist loodud kultuurides.

Funktsionaalselt on HROG-st pärinevaid rakuliine hinnatud tundlikkuse suhtes GBM-ravis kasutatavatele standardravimitele ja uuritavatele ravimitele, sealhulgas temozolomidile, BCNU-le (karmustiinile), vinkristiinile ja imatinibile. Sobivate rakuliinide paaride ravimireaktsiooniprofiilid näitasid stabiilset ja reprodutseeritavat farmakoloogilist käitumist pärast kudede krüokonserveerimist. Ultra-madala passaažiga primaarse GBM mudelina pakub HROG33 T0 M1 kliiniliselt asjakohast in vitro süsteemi glioblastoomi bioloogia, ravivastuse prognoosimise ja patsiendispetsiifilise kasvaja heterogeensuse uurimiseks, minimeerides samal ajal pikaajalise pideva rakuliini adapteerumisega seotud artefakte.

Organism Inimene

Tissue Aju

Disease Glioblastoom

Omadused

Age 46 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Growth properties Kinnipeetav

HROG33 T0 M1 rakud | 300878**Regulatiivsed andmed**

Citation	HROG33 T0 M1 (Cytioni katalooginumber 300878)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U48

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 NaHCO ₃ (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 tsentrifugeerige 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.

HROG33 T0 M1 rakud | 300878

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 x 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

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

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.

HROG33 T0 M1 rakud | 300878

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.