

HROG12 T0 M1 rakud | 300882

Üldine teave

Description

HROG12 T0 M1 on primaarne inimese glioblastoma multiforme (GBM) rakuliin, mis on loodud WHO IV astme glioblastoomiga diagnoositud täiskasvanud patsiendi värskest resekteeritud kasvajakoeist. Märges „T0” tähistab, et proov võeti esialgse kirurgilise sekkumise käigus, samas kui „M1” viitab vastavale in vitro mudelile, mis on saadud sellest primaarse kasvaja proovist. Rakuliin loodi HROG (Hansestadt Rostock Glioma) mudelplatvormi raames, mille eesmärk on luua ultra-madala passaažiga glioomikultuurid, mis säilitavad patsiendispetsiifilised molekulaarsed ja bioloogilised omadused.

HROG12 T0 M1 näitab standardse kultiveerimise tingimustes adhesiivset kasvu ja esineb fibroblastide sarnane morfoloogia, mis on tüüpiline primaarse GBM kultuuride puhul. HROG-st saadud rakuliinide immunofenotüübiline iseloomustus näitab närvi- ja gliaalsete markerite, nagu gliaalsete fibrillaarse happelise valguga (GFAP), nestini ja vimentiini ekspresiooni, mis toetab astrotsüütide kasvaja päritolu. HROG-kogus sisaldab molekulaarne profiil kliiniliselt oluliste biomarkereid, nagu MGMT-promootori metüülatsioon, EGFR-amplifikatsiooni staatus ja geenide mutatsioonianalüüs, sealhulgas TP53, IDH1/2, KRAS ja BRAF, mis kinnitab kasvajaga seotud genoomimuutuste säilimist varajastes passaažikultuurides.

HROG12 T0 M1 on kasutatud in vitro hindamiseks ravivastustele glioblastoomi standardravile, sealhulgas alküülimisainetele, samuti uuritavatele sihravimitele. HROG-mudelite võrdlev analüüs näitab stabiilset morfoloogiat, reprodutseeritavat kasvukineetikat ja järjepidevaid ravimite tundlikkuse profiile varastes passaažides. Patsiendilt saadud madala passaažiga glioblastoomi mudelina pakub HROG12 T0 M1 kliiniliselt olulist platvormi kõrge astme glioomi kasvajabioloogia, molekulaarse heterogeensuse ja ravimresistentsuse mehhanismide uurimiseks.

Organism	Inimene
Tissue	Aju
Disease	Glioblastoom

Omadused

Ethnicity	Kaukaasia
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	HROG12 T0 M1 (Cytioni katalooginumber 300882)
Biosafety level	1

HROG12 T0 M1 rakud | 300882**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FR**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.

HROG12 T0 M1 rakud | 300882**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.

HROG12 T0 M1 rakud | 300882

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.