

HROG17 T1 M1 rakud | 300875

Üldine teave

Description

HROG17 T1 M1 on primaarne inimese glioblastoma multiforme (GBM) rakuliin, mis on loodud WHO IV astme glioblastoma diagnoosiga täiskasvanud patsiendilt eemaldatud kasvaja proovist. Tähis „T1” näitab, et proov võeti esimese operatsiooni ajal, „M1” tähistab aga sellest kasvajast saadud vastavat in vitro mudelit. Rakuliin loodi HROG (Hansestadt Rostock Glioma) platvormil, mis keskendub patsiendispetsiifilisi molekulaarseid ja fenotüüpilisi omadusi säilitavate ultra-madala passaažiga glioomikultuuride loomisele.

HROG17 T1 M1 kasvab standardse kultuuri tingimustes adhesiivselt ja näitab fibroblastide morfoloogiat, mis on tüüpiline primaarse GBM kultuuride puhul. HROG-st saadud liinide immunofenotüübiline iseloomustus näitab gliaalsete ja närvirakkude liiniga seotud markerite, nagu gliaalne fibrillaarne happeline valk (GFAP), nestin ja vimentiin, ekspressiooni, mis on kooskõlas kõrge astme astrotsütaarse kasvaja päritoluga. HROG-kogu molekulaarne profiilimine hõlmab kliiniliselt oluliste parameetrite hindamist, nagu MGMT-promootori metülatsioon, EGFR amplifikatsiooni staatus ja võtmegeenide, sealhulgas TP53, IDH1/2, KRAS ja BRAF mutatsioonianalüüs, mis toetab kasvajaspetsiifiliste genoomimuutuste säilitamist kultuuris.

HROG17 T1 M1 on kasutatud glioblastoomi standardravi ravimite, sealhulgas alküülivate kemoteraapiate ja täiendavate sihravimite tundlikkuse hindamiseks. HROG-mudelite võrdlev analüüs näitab, et madala passaažiga kultuurid säilitavad varajastes passaažides stabiilse morfoloogia, kasvukineetika ja ravimireaktsiooni profiilid. Patsiendilt saadud madala passaažiga glioblastoomi mudelina pakub HROG17 T1 M1 kliiniliselt olulist in vitro platvormi kõrge astme glioomi kasvabioloogia, ravivastuse ja kasvajatevahelise heterogeensuse uurimiseks.

Organism	Inimene
Tissue	Aju
Disease	Glioblastoom

Omadused

Age	70 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	HROG17 T1 M1 (Cytioni katalooginumbr 300875)
-----------------	--

HROG17 T1 M1 rakud | 300875

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FQ**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** TrypLE Express, 37°C, 10 min,**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.

HROG17 T1 M1 rakud | 300875

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 raku pellet 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.

HROG17 T1 M1 rakud | 300875

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.

HLA alleles

A*: '11:01:01, '66:01:01
B*: '14:02:01, '40:02:01
C*: '01:02:01, '08:02:01
DRB1*: '01:02:01, '12:01:01
DQA1*: '01:01:02, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPA1*: 0,04375, 0,084027778
DPB1*: '04:01:01, '11:01:01
E: '01:01, '01:03