

HROG06 T0 M2-solut | 300883

Yleisiä tietoja

Description

HROG06 T0 M2 on primaarinen ihmisen glioblastoma multiforme (GBM) -solulinja, joka on perustettu WHO:n luokituksen IV glioblastoomaksi diagnosoidun aikuispotilaan tuoreesta resektoidusta kasvainkudoksesta. Merkintä "T0" tarkoittaa, että kasvainnäyte on otettu ensimmäisen kirurgisen toimenpiteen yhteydessä, kun taas "M2" viittaa toiseen itsenäisesti luotuun in vitro -malliin, joka on peräisin samasta primaarikasvaimesta. Solulinja on kehitetty HROG (Hansestadt Rostock Glioma) -alustalla, joka keskittyy luomaan erittäin vähän passitoituja glioomakulttuureja, jotka säilyttävät potilaan alkuperäisen kasvaimen biologiset ja molekyylliset ominaisuudet.

HROG06 T0 M2 kasvaa tarttuvasti standardoiduissa viljelyolosuhteissa ja osoittaa primaarisille GBM-viljelmille tyypillistä sukkulamaisen, fibroblastien kaltaista morfologiaa. HROG-sarjan immunofenotyyppiset analyysit osoittavat hermosolujen ja glia-solujen markkereiden, kuten glia-solujen fibrillaarisen happaman proteiinin (GFAP), nestinin ja vimentinin, ilmentymisen, mikä tukee astrozyttisen kasvaimen alkuperää. HROG-alustan molekyylinen karakterisointi sisältää kliinisesti merkittävien biomarkerien, kuten MGMT-promoottorin metylaatio-tilan, EGFR-amplifikaation ja TP53-, IDH1/2-, KRAS- ja BRAF-geenien mutaatioprofiilien arvioinnin, mikä vahvistaa kasvaimen liittyvien genomimuutosten säilyvyyden varhaisissa viljelmissä.

HROG06 T0 M2:ta on käytetty in vitro -arvioinnissa terapeuttisten vasteiden suhteen glioblastooman standardihoitoihin, mukaan lukien alkyloivat kemoterapeuttiset aineet sekä kohdennetut estäjät. HROG-kokoelman sisällä tehdyt vertailevat analyysit osoittavat stabiilin morfologian, toistettavan kasvukineettisen ja yhdenmukaiset lääkeherkkyysofiilit varhaisissa soluviljelmissä, mikä tukee sen sopivuutta translaationaalisen tutkimusmallina. Potilaasta peräisin olevana, matalan soluviljelmän GBM-solulinjana HROG06 T0 M2 tarjoaa kliinisesti merkittävän alustan glioblastooman biologian, kasvaimen heterogeenisyyden ja hoidon resistenssimekanismien tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Aivot

Disease Glioblastooma

Ominaisuudet

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HROG06 T0 M2 (Cytionin luettelonumero 300883)

Biosafety level 1

HROG06 T0 M2-solut | 300883**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Biomolekyylitiedot****Käsittely****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

HROG06 T0 M2-solut | 300883**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HROG06 T0 M2-solut | 300883

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittäyksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.