

## HROG33 T0 M1 Solut | 300878

## Yleisiä tietoja

## Description

HROG33 T0 M1 on primaarinen ihmisen glioblastoma multiforme (GBM) -solulinja, joka on perustettu aikuisten naispotilaiden tuoreesta resektoidusta kasvainkudoksesta, jossa on WHO-luokan IV glioblastoma vasemmassa takaraivo-ohimialueella. Merkintä "T0" viittaa primaariseen kasvaimeen alkuperäisessä diagnoosissa, ja "M1" viittaa vastaavaan in vitro -malliin, joka on johdettu tästä näytteestä. Solulinja on luotu osana systemaattista pyrkimystä luoda erittäin vähän passitoituja GBM-viljelmiä sekä tuoreesta että elinvoimaisesta kryosäilytyistä kasvainmateriaaleista, tavoitteena säilyttää potilaskohtaiset molekyyliset ja toiminnalliset ominaisuudet.

HROG33 T0 M1 osoittaa adheesiivista kasvua, jolla on primaarisille GBM-viljelmille tyypillinen fibroblastien kaltainen morfologia. Solut muodostavat yksikerroksisen kerroksen ja osoittavat in vitro tasaisen proliferaatiokyvyn. Vertailevassa perustamistutkimuksessa tuoreesta ja kryosäilytyistä kasvainkudoksista peräisin olevat parikulttuurit eivät osoittaneet merkittäviä eroja morfologiassa, kasvukineetiikassa tai lääkevasteessa. Edustavien HROG-solulinjojen immunofenotyyppinen karakterisointi osoitti gliafibrillaarisen happaman proteiinin (GFAP), nestinin ja vimentinin kaltaisten hermosolulinjaan liittyvien merkkiaineiden ilmentymisen, mikä on yhdenmukaista glioomasta peräisin olevan fenotyypin kanssa. HROG-sarjassa suoritettujen molekyyliallyysien sisälsivät MGMT-promoottorin metylaation, EGFR-amplifikaation ja TP53-, IDH1/2-, KRAS- ja BRAF-mutaatioiden arvioinnin, mikä tukee kasvaimille ominaisia genomisia piirteitä vakiintuneissa viljelmissä.

Toiminnallisesti HROG-peräiset solulinjat on arvioitu herkkyuden suhteen GBM-hoidossa käytettäville standardihoidoille ja tutkimusaineille, mukaan lukien temotsolomidi, BCNU (karmustiini), vinkristiini ja imatinibi. Vastaavien solulinjaparien lääkevasteprofilit osoittivat vakaata ja toistettavaa farmakologista käyttäytymistä kudoksen kryosäilytyksen jälkeen. Erittäin matalan passageluvun primaarisena GBM-mallina HROG33 T0 M1 tarjoaa kliinisesti merkityksellisen in vitro -järjestelmän glioblastooman biologian, terapeuttisen vasteen ennustamisen ja potilaskohtaisen kasvaimen heterogeenisyyden tutkimiseen samalla minimoiden pitkäaikaiseen jatkuvaan solulinjan sopeutumiseen liittyvät artefaktit.

**Organism** Ihminen

**Tissue** Aivot

**Disease** Glioblastooma

## Ominaisuudet

**Age** 46 vuotta

**Gender** Nainen

**Ethnicity** Kaukasialainen

**Growth properties** Tarttuva

**HROG33 T0 M1 Solut | 300878****Säätelytiedot**

<b>Citation</b>	HROG33 T0 M1 (Cytionin luettelonumero 300878)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U48

**Biomolekyyli tiedot****Käsittely**

<b>Culture Medium</b>	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 NaHCO <sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820400a)
<b>Supplements</b>	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Freeze medium</b>	Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

## HROG33 T0 M1 Solut | 300878

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, 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 jäästä 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 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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.

## HROG33 T0 M1 Solut | 300878

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä 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.

### Storage Conditions

Pitkäaikaisäilytystä 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

Mykoplasma- ja kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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