

HROG17 T1 M1-solut | 300875

Yleisiä tietoja

Description

HROG17 T1 M1 on primaarinen ihmisen glioblastoma multiforme (GBM) -solulinja, joka on perustettu aikuista potilasta, jolla on diagnosoitu WHO:n luokan IV glioblastoma, resektoidusta kasvainnäytteestä. Merkintä "T1" tarkoittaa, että näyte on otettu ensimmäisen leikkauksen yhteydessä, kun taas "M1" tarkoittaa vastaavaa in vitro -mallia, joka on johdettu tästä kasvaimesta. Solulinja on luotu HROG (Hansestadt Rostock Glioma) -alustalla, joka keskittyy erittäin matalan passageluvun glioomakulttuurien luomiseen, jotka säilyttävät potilaskohtaiset molekyyli- ja fenotyyppiset ominaisuudet.

HROG17 T1 M1 kasvaa tarttuvasti tavallisissa viljelyolosuhteissa ja osoittaa fibroblastien kaltaista morfologiaa, joka on tyypillistä primaarisille GBM-viljelmille. HROG-peräisten linjojen immunofenotyyppinen karakterisointi osoittaa glia- ja hermosolulinjaan liittyvien merkkiaineiden, kuten gliafibrillaarisen happaman proteiinin (GFAP), nestinin ja vimentiniin, ilmentymisen, mikä on yhdenmukaista korkea-asteisen astrosyyttisen kasvaimen alkuperän kanssa. HROG-kokoelman molekyyliprofilointi sisältää kliinisesti merkittävien parametrien, kuten MGMT-promoottorin metylaation, EGFR-amplifikaation tilan ja keskeisten geenien, kuten TP53, IDH1/2, KRAS ja BRAF, mutaatioanalyysin arvioinnin, mikä tukee kasvaimille tyypillisten genomimuutosten säilyttämistä viljelmässä.

HROG17 T1 M1:tä on käytetty glioblastooman standardihoitoaineiden, kuten alkyloivien kemoterapeuttisten aineiden ja muiden kohdennettujen yhdisteiden, herkkyyden arviointiin. HROG-mallien väliset vertailuanalysit osoittavat, että matalan passageluvun viljelmät säilyttävät stabiilin morfologian, kasvukineettiset ominaisuudet ja lääkevasteprofilit varhaisissa passageluvuissa. Potilaasta peräisin olevana, matalan passageluvun glioblastoomamallina HROG17 T1 M1 tarjoaa kliinisesti merkittävän in vitro -alustan korkea-asteisen gliooman tuumoribiologian, terapeuttisen vasteen ja tuumorien välisen heterogeenisyyden tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Aivot

Disease Glioblastooma

Ominaisuudet

Age 70 vuotta

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

HROG17 T1 M1-solut | 300875

Citation HROG17 T1 M1 (Cytionin luettelonumero 300875)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7FQ

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 TrypLE Express, 37 °C, 10 min,

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 osmoprotectanteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

HROG17 T1 M1-solut | 300875

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa 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 tarttuvaa, 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.

HROG17 T1 M1-solut | 300875

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 määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

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

HLA-alleelit

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