

HROG06 T0 M2 sejtek | 300883

Általános információk

Description

A HROG06 T0 M2 egy elsődleges humán glioblastoma multiforme (GBM) sejtvonal, amelyet egy WHO IV. fokozatú glioblastomával diagnosztizált felnőtt beteg frissen eltávolított tumoros szövetéből hoztak létre. A „T0” jelölés azt jelzi, hogy a tumor mintát az első műtéti beavatkozás során vették, míg az „M2” jelölés ugyanazon elsődleges tumorból származó, függetlenül létrehozott második in vitro modellre utal. A sejtvonalat a HROG (Hansestadt Rostock Glioma) platformon belül fejlesztették ki, amelynek célja olyan, rendkívül alacsony passzási számú glióma kultúrák létrehozása, amelyek megőrzik az eredeti beteg tumorának biológiai és molekuláris jellemzőit.

A HROG06 T0 M2 standardizált tenyésztési körülmények között adhezív módon növekszik, és az elsődleges GBM-tenyészetekre jellemző orsó alakú, fibroblaszt-szerű morfológiát mutat. A HROG-sorozat immunfenotípus-elemzése olyan neurális és glia-vonalbeli markerek expresszióját mutatják, mint a glia fibrilláris savas fehérje (GFAP), a nestin és a vimentin, ami alátámasztja az asztrocitás tumor eredetét. A HROG platformon belüli molekuláris jellemzés magában foglalja a klinikailag releváns biomarkerek, például az MGMT promóter metilációs státusza, az EGFR amplifikációja és a TP53, IDH1/2, KRAS és BRAF gének mutációs profiljának értékelését, megerősítve a tumorról kapcsolatos genomikus változások megőrződését a korai passzázsú tenyészetekben.

A HROG06 T0 M2-t a standard glioblastoma-kezelésekre adott terápiás válaszok in vitro értékelésére használták, beleértve az alkilező kemoterápiás szereket és a célzott inhibitorokat. A HROG gyűjteményen belüli összehasonlító elemzések stabil morfológiát, reprodukálható növekedési kinetikát és konzisztens gyógyszerérzékenységi profilokat mutatnak a korai passzázsokban, alátámasztva alkalmazását transzlációs kutatási modellként. Betegektől származó, alacsony passzázsú GBM sejtvonalaként a HROG06 T0 M2 klinikailag releváns platformot biztosít a glioblastoma biológiájának, a tumor heterogenitásának és a kezelésrezisztencia mechanizmusainak tanulmányozásához.

Organism Emberi

Tissue Agy

Disease Glioblastoma

Jellemzők

Ethnicity Kaukázusi

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HROG06 T0 M2 (Cytion katalógusszám: 300883)

Biosafety level 1

HROG06 T0 M2 sejtek | 300883**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Biomolekuláris adatok****A kezelése****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion 820400a cikkszám)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.**Freeze medium** A kriokonzerváláshoz 50%-os alapközeget + 40% FBS + 10% DMSO-t vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) használunk, amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regeneráció fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

HROG06 T0 M2 sejtek | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejttabletát 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonali folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HROG06 T0 M2 sejtek | 300883

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.