

HROG33 T0 M1 sejtek | 300878

Általános információk

Description

A HROG33 T0 M1 egy elsődleges humán glioblastoma multiforme (GBM) sejtvonal, amelyet egy felnőtt női beteg frissen eltávolított tumoros szövetéből hoztak létre, aki WHO IV. fokozatú glioblastomában szenvedett, amely a bal occipitotemporalis régióban helyezkedett el. A „T0” jelölés az elsődleges tumorra utal a kezdeti diagnózisban, az „M1” pedig a mintából származó megfelelő in vitro modellt jelöli. A sejtvonalat egy szisztematikus erőfeszítés részeként hozták létre, amelynek célja ultra-alacsony passzálású GBM-tenyészetek létrehozása volt friss és vitálisan kriokonzervált tumor anyagokból, a betegspecifikus molekuláris és funkcionális jellemzők megőrzése érdekében.

A HROG33 T0 M1 adhezív növekedést mutat, elsődleges GBM-tenyészetekre jellemző fibroblaszt-szerű morfológiával. A sejtek egyrétegűek és in vitro konzisztens proliferációs képességgel rendelkeznek. Az összehasonlító létrehozási tanulmányban a friss és kriokonzervált tumor szövetből származó párosított kultúrák nem mutattak szignifikáns különbségeket a morfológiában, a növekedési kinetikában vagy a gyógyszerre adott reakcióban. A reprezentatív HROG sejtvonalak immunfenotípusos jellemzése kimutatta a neurális vonalhoz kapcsolódó markerek, köztük a gliális fibrilláris savas fehérje (GFAP), a nestin és a vimentin expresszióját, ami összhangban áll a gliómából származó fenotípussal. A HROG-sorozaton végzett molekuláris elemzések magukban foglalták az MGMT promóter metilációjának, az EGFR amplifikációjának, valamint a TP53, IDH1/2, KRAS és BRAF mutációs státuszának értékelését, alátámasztva a tumor-specifikus genomikus jellemzők megőrződését a létrehozott tenyészetekben.

Funkcionálisan a HROG-ból származó sejtvonalakat értékelték a GBM-terápiában alkalmazott standard kezelési és kísérleti szerekekkel szembeni érzékenységekre, beleértve a temozolomidot, a BCNU-t (karmustin), a vinkrisztint és az imatinibot. Az egymáshoz illő sejtvonalpárok gyógyszerre adott reakcióprofiljai stabil és reprodukálható farmakológiai viselkedést mutattak a szövetek krioprezervációja után. Ultra-alacsony passzálású primer GBM modellként a HROG33 T0 M1 klinikailag releváns in vitro rendszert biztosít a glioblastoma biológiájának, a terápiás válasz előrejelzésének és a betegspecifikus tumorheterogenitásnak a vizsgálatához, miközben minimalizálja a hosszú távú folyamatos sejtvonal-adaptációval kapcsolatos artefaktumokat.

Organism Emberi

Tissue Agy

Disease Glioblastoma

Jellemzők

Age 46 év

Gender Női

Ethnicity Kaukázusi

HROG33 T0 M1 sejtek | 300878

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation HROG33 T0 M1 (Cytion katalógusszám: 300878)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4U48

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.

HROG33 T0 M1 sejtek | 300878

**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 kriofülkét 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 sejt pelletet 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 sejt vonal 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 sejt vonalakat 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.

HROG33 T0 M1 sejtek | 300878

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalatokat 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.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 °C és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °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.