

HROG33 T0 M1 Ląstelės | 300878**Bendra informacija****Description**

HROG33 T0 M1 yra pirminė žmogaus glioblastoma multiforme (GBM) ląstelių linija, sukurta iš šviežiai pašalinto naviko audinio, paimto iš suaugusios moters, sergančios IV laipsnio glioblastoma, esančia kairėje pakaušio-smilkinio srityje. Pavadinimas „T0“ reiškia pirminį naviką pirminės diagnozės metu, o „M1“ reiškia atitinkamą in vitro modelį, gautą iš šio mėginio. Ląstelių linija buvo sukurta kaip sistemingų pastangų dalis sukurti itin mažo praėjimo GBM kultūras iš šviežio ir gyvybiškai kriokonservuoto naviko medžiagos, siekiant išsaugoti pacientui būdingas molekulinės ir funkcinės savybes.

HROG33 T0 M1 pasižymi adheziniu augimu su fibroblastams būdinga morfologija, tipiška pirminėms GBM kultūroms. Ląstelės sudaro monosluoksnį ir in vitro pasižymi nuosekliu proliferacijos pajėgumu. Lyginamojoje tyrimų serijoje porinės kultūros, gautos iš šviežio ir kriokonservuoto naviko audinio, neparodė reikšmingų skirtumų morfologijoje, augimo kinetikoje ar reakcijoje į vaistus. Imunofenotipinis reprezentatyvių HROG ląstelių linijų charakterizavimas parodė nervų linijos žymeklių, įskaitant glial fibrillary acidic protein (GFAP), nestin ir vimentin, ekspresiją, atitinkančią gliomos fenotipą. HROG serijoje atliktos molekulinės analizės apėmė MGMT promotoriaus metilinimo, EGFR amplifikacijos ir TP53, IDH1/2, KRAS bei BRAF mutacijų būklės vertinimą, patvirtinantį navikams būdingų genominių savybių išsaugojimą sukurtose kultūrose.

Funkciniu požiūriu HROG kilmės ląstelių linijos buvo įvertintos pagal jautrumą standartiniams ir tiriamiesiems vaistams, naudojamiems GBM terapijoje, įskaitant temozolomidą, BCNU (karmustiną), vinkristiną ir imatinibą. Atitinkamų ląstelių linijų porų vaistų atsako profiliai parodė stabilų ir atkartojamą farmakologinį elgesį po audinių kriokonservavimo. Kaip itin mažo praėjimo pirminis GBM modelis, HROG33 T0 M1 suteikia klinikinę reikšmę turinčią in vitro sistemą glioblastomos biologijos, terapinio atsako prognozavimo ir pacientui būdingos naviko heterogeniškumo tyrimams, tuo pačiu sumažindamas artefaktus, susijusius su ilgalaikiu nuolatinio ląstelių linijos prisitaikymu.

Organism Žmogus**Tissue** Smegenys**Disease** Glioblastoma**Charakteristikos****Age** 46 metai**Gender** Moteris**Ethnicity** Kaukazičių**Growth properties** Prigludęs**Reguliavimo duomenys**

HROG33 T0 M1 Ląstelės | 300878**Citation** HROG33 T0 M1 (Cytion katalogo numeris 300878)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4U48**Biomolekuliniai duomenys****Tvarkymas****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HROG33 T0 M1 Ląstelės | 300878

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HROG33 T0 M1 Ląstelės | 300878

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug $-150\text{--}196\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Laikymas $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.