

## HROG06 T0 M2 šūnas | 300883

## Vispārīga informācija

## Description

HROG06 T0 M2 ir primārā cilvēka glioblastoma multiforme (GBM) šūnu līnija, kas izveidota no svaigi izgriezta audzēja audiem pieaugušam pacientam, kuram diagnosticēta IV pakāpes glioblastoma saskaņā ar PVO klasifikāciju. Apzīmējums „T0” norāda, ka audzēja paraugs tika iegūts sākotnējā ķirurģiskā iejaukšanās laikā, savukārt „M2” attiecas uz otro neatkarīgi izveidoto in vitro modeli, kas iegūts no tā paša primārā audzēja. Šūnu līnija tika izstrādāta HROG (Hansestadt Rostock Glioma) platformā, kas koncentrējas uz ultra-zemas pasāžas gliomas kultūru izveidi, kas saglabā sākotnējā pacienta audzēja bioloģiskās un molekulārās īpašības.

HROG06 T0 M2 aug pieklāvīgi standartizētos kultivēšanas apstākļos un uzrāda vārpstas formas fibroblastveida morfoloģiju, kas ir tipiska primārajām GBM kultūrām. Imunofenotipiskās analīzes visā HROG sērijā parāda neironu un glijas cilts marķieru, piemēram, glijas fibrilārā skābā proteīna (GFAP), nestīna un vimentīna, ekspresiju, kas apstiprina astrocītu audzēja izcelsmi. Molekulārā raksturošana HROG platformā ietver klīniski nozīmīgu biomarkieru novērtēšanu, piemēram, MGMT promotora metilācijas statusu, EGFR amplifikāciju un gēnu mutāciju profilēšanu, tostarp TP53, IDH1/2, KRAS un BRAF, apstiprinot audzējiem saistītu genomisko izmaiņu saglabāšanu agrīnās pasāžas kultūrās.

HROG06 T0 M2 ir izmantots in vitro novērtējumam par terapeitisko reakciju uz standarta glioblastomas ārstēšanu, tostarp alkilējošiem ķīmijterapijas līdzekļiem, kā arī mērķtiecīgiem inhibitoriem. Salīdzinošās analīzes HROG kolekcijā liecina par stabilu morfoloģiju, reproducējamu augšanas kinētiku un konsekventiem zāļu jutības profiliem agrīnās pasāžās, kas apstiprina tās piemērotību kā translacionāla pētījumu modeļa. Kā no pacientiem iegūta, zemas pasāžas GBM šūnu līnija, HROG06 T0 M2 nodrošina klīniski nozīmīgu platformu glioblastomas bioloģijas, audzēja heterogenitātes un ārstēšanas rezistences mehānismu pētīšanai.

<b>Organism</b>	Cilvēks
<b>Tissue</b>	Smadzenes
<b>Disease</b>	Glioblastoma

## Raksturojums

<b>Ethnicity</b>	Kaukāzietis
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Normatīvie dati

<b>Citation</b>	HROG06 T0 M2 (Cytion kataloga numurs 300883)
<b>Biosafety level</b>	1

## HROG06 T0 M2 šūnas | 300883

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FP**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

## HROG06 T0 M2 šūnas | 300883

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par  $-150^{\circ}\text{C}$ , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to  $37^{\circ}\text{C}$  ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar  $300 \times g$  3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

### Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## HROG06 T0 M2 šūnas | 300883

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.