

HROG33 T0 M1 Šūnas | 300878

Vispārīga informācija

Description

HROG33 T0 M1 ir primārā cilvēka glioblastoma multiforme (GBM) šūnu līnija, kas izveidota no svaigi izgriezta audzēja audu pieaugušai sievietei ar IV pakāpes glioblastomu, kas atrodas kreisajā pakauša-smadzeņu daļā. Apzīmējums „T0” attiecas uz primāro audzēju sākotnējā diagnozē, bet „M1” apzīmē atbilstošo in vitro modeli, kas iegūts no šī parauga. Šūnu līnija tika izveidota kā daļa no sistemātiskām pūlēm izveidot ultra-zemas pasāžas GBM kultūras gan no svaiga, gan vitāli kriokonservēta audzēja materiāla, ar mērķi saglabāt pacientam specifiskas molekulārās un funkcionālās īpašības.

HROG33 T0 M1 uzrāda adhezīvu augšanu ar fibroblastveida morfoloģiju, kas ir tipiska primārajām GBM kultūrām. Šūnas veido monoslāni un in vitro uzrāda stabilu proliferatīvo spēju. Salīdzinošajā izveides pētījumā pāriem kultūrām, kas iegūtas no svaiga un kriokonservēta audzēja audu, nebija novērotas nozīmīgas atšķirības morfoloģijā, augšanas kinētikā vai reakcijā uz zālēm. Reprezentatīvo HROG šūnu līniju imunofenotipiskā raksturošana parādīja neironu cilts līnijas marķieru ekspresiju, tostarp gliofibrilārā skābā proteīna (GFAP), nestīna un vimentīna, kas atbilst gliomas fenotipam. HROG sērijā veiktās molekulārās analīzes ietvēra MGMT promotora metilācijas, EGFR amplifikācijas un TP53, IDH1/2, KRAS un BRAF mutāciju statusa novērtējumu, kas apstiprināja audzējiem specifisku genomisko pazīmju saglabāšanos izveidotajās kultūrās.

Funkcionāli HROG atvasinātās šūnu līnijas ir novērtētas attiecībā uz jutību pret standarta aprūpes un izpētes līdzekļiem, ko izmanto GBM terapijā, tostarp temozolomīdu, BCNU (karmustīnu), vinkristīnu un imatinibu. Atbilstošo šūnu līniju pāru zāļu reakcijas profili liecināja par stabilu un reproducējamu farmakoloģisko uzvedību pēc audu kriokonservācijas. Kā primārais GBM modelis ar ļoti zemu pasāžu skaitu, HROG33 T0 M1 nodrošina klīniski nozīmīgu in vitro sistēmu glioblastomas bioloģijas izpētei, terapeitiskās reakcijas prognozēšanai un pacientam specifiskas audzēja heterogenitātes izpētei, vienlaikus samazinot artefaktus, kas saistīti ar ilgtermiņa nepārtrauktu šūnu līnijas adaptāciju.

Organism Cilvēks

Tissue Smadzenes

Disease Glioblastoma

Raksturojums

Age 46 gadi

Gender Sievietes

Ethnicity Kaukāzietis

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

HROG33 T0 M1 Šūnas | 300878

Citation	HROG33 T0 M1 (Cytion kataloga numurs 300878)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_4U48
-----------------------------	-----------

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 ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)
-----------------------	--

Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
--------------------	-------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Noņemt 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 pārklājiet 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.
----------------------	---

HROG33 T0 M1 Šūnas | 300878

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 °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°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 x 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°C, 5% 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 šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HROG33 T0 M1 Šūnas | 300878

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