

HROG12 T0 M1 šūnas | 300882

Vispārīga informācija

Description

HROG12 T0 M1 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 paraugs tika iegūts sākotnējā ķirurģiskā iejaukšanās laikā, savukārt „M1” attiecas uz atbilstošu in vitro modeli, kas iegūts no šī primārā audzēja. Šūnu līnija tika izveidota HROG (Hansestadt Rostock Glioma) modeļu platformā, kas koncentrējas uz ultra-zemas pasāžas gliomas kultūru izveidi, kas saglabā pacientam specifiskas molekulārās un bioloģiskās īpašības.

HROG12 T0 M1 parāda adhezīvu augšanu standarta kultivēšanas apstākļos un uzrāda fibroblastu morfoloģiju, kas ir tipiska primārajām GBM kultūrām. HROG atvasināto šūnu līniju imunofenotipiskā raksturojuma analīze parāda neironu un glijas šūnu līnijas marķieru, piemēram, glijas fibrilārā skābā proteīna (GFAP), nestīna un vimentīna, ekspresiju, kas apstiprina astrocītu audzēja izcelsmi. HROG kolekcijā molekulārā profilēšana ietver klīniski nozīmīgu biomarķieru novērtēšanu, piemēram, MGMT promotora metilāciju, EGFR amplifikācijas statusu un gēnu mutāciju analīzi, tostarp TP53, IDH1/2, KRAS un BRAF, apstiprinot audzējiem saistītu genomisko izmaiņu saglabāšanos agrīnās pasāžas kultūrās.

HROG12 T0 M1 ir izmantots in vitro novērtējumam par terapeitisko reakciju uz standarta glioblastomas ārstēšanu, tostarp alkilējošiem līdzekļiem, kā arī izpētes mērķtiecīgām terapijām. Salīdzinošās analīzes starp HROG modeļiem liecina par stabilu morfoloģiju, reproducējamu augšanas kinētiku un konsekventiem zāļu jutības profiliem agrīnās pasāžās. Kā no pacientiem iegūts glioblastomas modelis ar zemu pasāžu skaitu, HROG12 T0 M1 nodrošina klīniski nozīmīgu platformu augstas pakāpes gliomas audzēja bioloģijas, molekulārās heterogenitātes un terapeitiskās rezistences mehānismu pētīšanai.

| | |
|-----------------|--------------|
| Organism | Cilvēks |
| Tissue | Smadzenes |
| Disease | Glioblastoma |

Raksturojums

| | |
|--------------------------|-------------|
| Ethnicity | Kaukāzietis |
| Growth properties | Adherent |

Normatīvie dati

| | |
|------------------------|--|
| Citation | HROG12 T0 M1 (Cytion kataloga numurs 300882) |
| Biosafety level | 1 |

HROG12 T0 M1 šūnas | 300882

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FR**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 NaHCO₃ (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.

HROG12 T0 M1 šūnas | 300882

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

Neviens

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.

HROG12 T0 M1 šūnas | 300882

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.