

HROG17 T1 M1 šūnas | 300875

Vispārīga informācija

Description

HROG17 T1 M1 ir primārā cilvēka glioblastoma multiforme (GBM) šūnu līnija, kas izveidota no audzēja parauga, kas izgriezts pieaugušajam pacientam, kuram diagnosticēta IV pakāpes glioblastoma saskaņā ar PVO klasifikāciju. Apzīmējums „T1” norāda, ka paraugs tika iegūts pirmajā operācijas brīdī, bet „M1” apzīmē atbilstošo in vitro modeli, kas iegūts no šī audzēja. Šūnu līnija tika izveidota HROG (Hansestadt Rostock Glioma) platformā, kas koncentrējas uz ultra-zemas pasāžas gliomas kultūru izveidi, kas saglabā pacientam specifiskas molekulārās un fenotipiskās īpašības.

HROG17 T1 M1 aug pieklāvīgi standarta kultivēšanas apstākļos un uzrāda fibroblastiem līdzīgu morfoloģiju, kas ir tipiska primārajām GBM kultūrām. HROG atvasināto līniju imunofenotipiskā raksturošana parāda gliozo un neironu cilts līnijas saistīto marķieru, piemēram, gliozo fibrilārā skābā proteīna (GFAP), nestīna un vimentīna, ekspresiju, kas atbilst augstas pakāpes astrocitāra audzēja izcelsmei. Molekulārā profilēšana HROG kolekcijā ietver klīniski nozīmīgu parametru novērtēšanu, piemēram, MGMT promotora metilāciju, EGFR amplifikācijas statusu un galveno gēnu, tostarp TP53, IDH1/2, KRAS un BRAF, mutāciju analīzi, kas atbalsta audzējam specifisku genomisko izmaiņu saglabāšanu kultūrā.

HROG17 T1 M1 ir izmantots, lai novērtētu jutību pret standarta ārstēšanas līdzekļiem glioblastomai, tostarp alkilējošiem ķīmijterapijas līdzekļiem un papildu mērķtiecīgiem savienojumiem. Salīdzinošās analīzes starp HROG modeļiem liecina, ka kultūras ar zemu pasāžu skaitu saglabā stabilu morfoloģiju, augšanas kinētiku un zāļu reakcijas profilus agrīnās pasāžas. Kā no pacientiem iegūts glioblastomas modelis ar zemu pasāžu skaitu, HROG17 T1 M1 nodrošina klīniski nozīmīgu in vitro platformu augstas pakāpes gliomas audzēja bioloģijas, terapeitiskās reakcijas un audzēju heterogenitātes pētīšanai.

Organism	Cilvēks
Tissue	Smadzenes
Disease	Glioblastoma

Raksturojums

Age	70 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

HROG17 T1 M1 šūnas | 300875**Citation** HROG17 T1 M1 (Cytion kataloga numurs 300875)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FQ**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** TrypLE Express, 37°C, 10 min,**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.

HROG17 T1 M1 šūnas | 300875

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.

HROG17 T1 M1 šūnas | 300875

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.

HLA alēles

A*: '11:01:01, '66:01:01
B*: '14:02:01, '40:02:01
C*: '01:02:01, '08:02:01
DRB1*: '01:02:01, '12:01:01
DQA1*: '01:01:02, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPA1*: 0,04375, 0,084027778
DPB1*: '04:01:01, '11:01:01
E: '01:01, '01:03