

HROG33 T0 M1 Cellen | 300878**Algemene informatie****Description**

HROG33 T0 M1 is een primaire humane glioblastoma multiforme (GBM) cellijn die is opgezet uit vers verwijderd tumorweefsel van een volwassen vrouwelijke patiënt met WHO-graad IV glioblastoma in het linker occipitotemporale gebied. De aanduiding "T0" verwijst naar de primaire tumor bij de eerste diagnose en "M1" geeft het overeenkomstige in-vitromodel aan dat van dit monster is afgeleid. De cellijn is gegenereerd als onderdeel van een systematische poging om GBM-culturen met ultralage passage te kweken uit zowel vers als vitaal cryogeen bewaard tumormateriaal, met als doel de patiëntspecifieke moleculaire en functionele kenmerken te behouden.

HROG33 T0 M1 vertoont adherente groei met een fibroblast-achtige morfologie die typisch is voor primaire GBM-culturen. De cellen vormen een monolaag en vertonen in vitro een consistent proliferatief vermogen. In de vergelijkende vestigingsstudie vertoonden gepaarde culturen afkomstig van vers en cryopreserveerd tumorweefsel geen significante verschillen in morfologie, groeikinetiek of respons op geneesmiddelen. Immunofenotypische karakterisering van representatieve HROG-cellijnen toonde expressie aan van markers die geassocieerd zijn met de neurale afstamming, waaronder gliaal fibrillair zuur eiwit (GFAP), nestine en vimentine, in overeenstemming met een van glioom afgeleid fenotype. Moleculaire analyses die over de HROG-reeks werden uitgevoerd, omvatten beoordeling van MGMT-promotormethylatie, EGFR-amplificatie en mutatiestatus van TP53, IDH1/2, KRAS en BRAF, wat het behoud van tumorspecifieke genomische kenmerken in gevestigde culturen ondersteunt.

Functioneel zijn HROG-afgeleide cellijnen geëvalueerd op gevoeligheid voor standaardbehandelingen en onderzoeksgeneesmiddelen die worden gebruikt bij GBM-therapie, waaronder temozolomide, BCNU (carmustine), vincristine en imatinib. De geneesmiddelresponsprofielen van bij elkaar passende cellijnparen vertoonden stabiel en reproduceerbaar farmacologisch gedrag na weefselcryopreservatie. Als een primair GBM-model met ultralage passage biedt HROG33 T0 M1 een klinisch relevant in-vitrosysteem voor het onderzoeken van de biologie van glioblastoom, het voorspellen van de therapeutische respons en de patiëntspecifieke tumorheterogeniteit, terwijl artefacten die verband houden met langdurige continue aanpassing van de cellijn tot een minimum worden beperkt.

Organism	Mens
Tissue	Hersenen
Disease	Glioblastoom

Kenmerken

Age	46 jaar
Gender	Vrouw
Ethnicity	Kaukasisch

HROG33 T0 M1 Cellen | 300878

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HROG33 T0 M1 (Cytion catalogusnummer 300878)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4U48

Depositor M. Linnebacher

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugereren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we 50% basaal medium + 40% FBS + 10% DMSO, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en cryogeïnduceerde stress te verminderen.

HROG33 T0 M1 Cellen | 300878

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HROG33 T0 M1 Cellen | 300878

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.