

Komórki HROG06 T0 M2 | 300883**Informacje ogólne****Description**

HROG06 T0 M2 to pierwotna ludzka linia komórkowa glejaka wielopostaciowego (GBM) utworzona ze świeżo wyciętej tkanki nowotworowej dorosłego pacjenta, u którego zdiagnozowano glejaka IV stopnia według klasyfikacji WHO. Oznaczenie „T0” wskazuje, że próbka guza została pobrana podczas pierwszej interwencji chirurgicznej, natomiast „M2” odnosi się do drugiego, niezależnie wygenerowanego modelu in vitro pochodzącego z tego samego pierwotnego guza. Linia komórkowa została opracowana w ramach platformy HROG (Hansestadt Rostock Glioma), która koncentruje się na tworzeniu kultur glejaków o bardzo niskiej liczbie pasażów, zachowujących biologiczne i molekularne cechy charakterystyczne dla pierwotnego guza pacjenta.

HROG06 T0 M2 rośnie przylegająco w standardowych warunkach hodowli i wykazuje morfologię wrzecionowatą, podobną do fibroblastów, typową dla pierwotnych kultur GBM. Analizy immunofenotypowe w serii HROG wykazują ekspresję markerów linii nerwowej i glejowej, takich jak kwaśne białko włókniste gleju (GFAP), nestina i wimentyna, co potwierdza astrocytowe pochodzenie guza. Charakterystyka molekularna w ramach platformy HROG obejmuje ocenę klinicznie istotnych biomarkerów, takich jak status metylacji promotora MGMT, amplifikacja EGFR oraz profilowanie mutacji genów, w tym TP53, IDH1/2, KRAS i BRAF, potwierdzając zachowanie zmian genomowych związanych z nowotworem w kulturach wczesnego pasażowania.

HROG06 T0 M2 został wykorzystany do oceny in vitro odpowiedzi terapeutycznej na standardowe leczenie glejaka wielopostaciowego, w tym alkilujące środki chemioterapeutyczne, a także ukierunkowane inhibitory. Analizy porównawcze w ramach kolekcji HROG wskazują na stabilną morfologię, powtarzalną kinetykę wzrostu i spójne profile wrażliwości na leki we wczesnych pasażach, co potwierdza jej przydatność jako modelu badań translacyjnych. Jako pochodząca od pacjenta linia komórkowa GBM o niskiej liczbie pasażów, HROG06 T0 M2 stanowi platformę o znaczeniu klinicznym do badania biologii glejaka wielopostaciowego, heterogenności nowotworu i mechanizmów oporności na leczenie.

Organism Człowiek**Tissue** Mózg**Disease** Glejak wielopostaciowy**Charakterystyka****Ethnicity** Kaukaski**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HROG06 T0 M2 (numer katalogowy Cytion 300883)**Biosafety level** 1

Komórki HROG06 T0 M2 | 300883**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Depositor** M. Linnebacher**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HROG06 T0 M2 | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HROG06 T0 M2 | 300883

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.