

Komórki HROG33 T0 M1 | 300878

Informacje ogólne

Description

HROG33 T0 M1 to pierwotna ludzka linia komórkowa glejaka wielopostaciowego (GBM) utworzona ze świeżo wyciętej tkanki nowotworowej dorosłej pacjentki z glejakiem stopnia IV według klasyfikacji WHO, zlokalizowanym w lewej okolicy potyliczno-skroniowej. Oznaczenie „T0” odnosi się do pierwotnego guza w momencie wstępnej diagnozy, a „M1” oznacza odpowiedni model in vitro pochodzący z tej próbki. Linia komórkowa została wyhodowana w ramach systematycznych wysiłków mających na celu stworzenie kultur GBM o bardzo niskiej liczbie pasażów, zarówno ze świeżego, jak i kriokonserwowanego materiału nowotworowego, w celu zachowania specyficznych dla pacjenta cech molekularnych i funkcjonalnych.

HROG33 T0 M1 wykazuje przylegający wzrost o morfologii podobnej do fibroblastów, typowej dla pierwotnych kultur GBM. Komórki tworzą monowarstwę i wykazują stałą zdolność proliferacyjną in vitro. W porównawczym badaniu ustalenia, sparowane kultury pochodzące ze świeżej i kriokonserwowanej tkanki nowotworowej nie wykazały znaczących różnic w morfologii, kinetyce wzrostu ani reaktywności na leki. Charakterystyka immunofenotypowa reprezentatywnych linii komórkowych HROG wykazała ekspresję markerów związanych z linią komórkową układu nerwowego, w tym kwasowego białka włóknistego gleju (GFAP), nestyny i wimentyny, zgodną z fenotypem pochodzącym z glejaka. Analizy molekularne przeprowadzone w serii HROG obejmowały ocenę metylacji promotora MGMT, amplifikacji EGFR oraz statusu mutacyjnego TP53, IDH1/2, KRAS i BRAF, potwierdzając zachowanie cech genomowych charakterystycznych dla nowotworu w ustanowionych hodowlach.

Pod względem funkcjonalnym linie komórkowe pochodzące z HROG zostały ocenione pod kątem wrażliwości na standardowe i badane środki stosowane w terapii GBM, w tym temozolomid, BCNU (karmustyna), winkrystyna i imatynib. Profile odpowiedzi na leki dopasowanych par linii komórkowych wykazały stabilne i powtarzalne zachowanie farmakologiczne po kriokonserwacji tkanki. Jako model pierwotnego GBM o bardzo niskiej liczbie pasażów, HROG33 T0 M1 stanowi klinicznie istotny system in vitro do badania biologii glejaka wielopostaciowego, przewidywania odpowiedzi terapeutycznej i heterogeniczności nowotworów u poszczególnych pacjentów, minimalizując jednocześnie artefakty związane z długotrwałą ciągłą adaptacją linii komórkowej.

Organism Człowiek

Tissue Mózg

Disease Glejak wielopostaciowy

Charakterystyka

Age 46 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Komórki HROG33 T0 M1 | 300878**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HROG33 T0 M1 (numer katalogowy Cytion 300878)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4U48**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** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń 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 HROG33 T0 M1 | 300878

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 HROG33 T0 M1 | 300878

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.