

**Komórki HROG17 T1 M1 | 300875****Informacje ogólne****Description**

HROG17 T1 M1 to pierwotna ludzka linia komórkowa glejaka wielopostaciowego (GBM) utworzona z próbki guza pobranej od dorosłego pacjenta, u którego zdiagnozowano glejaka IV stopnia według klasyfikacji WHO. Oznaczenie „T1” wskazuje, że próbka została pobrana podczas pierwszej operacji, natomiast „M1” oznacza odpowiedni model in vitro pochodzący z tego guza. Linia komórkowa została wyhodowana w ramach platformy HROG (Hansestadt Rostock Glioma), która koncentruje się na tworzeniu kultur glejaków o bardzo niskiej liczbie pasażów, zachowujących specyficzne dla pacjenta cechy molekularne i fenotypowe.

HROG17 T1 M1 rośnie w standardowych warunkach hodowli i wykazuje morfologię podobną do fibroblastów, typową dla pierwotnych kultur GBM. Charakterystyka immunofenotypowa linii pochodzących z HROG wykazuje ekspresję markerów związanych z linią komórek glejowych i nerwowych, takich jak kwaśne białko włókniste gleju (GFAP), nestina i wimentyna, co jest zgodne z pochodzeniem nowotworu astrocytarnego wysokiego stopnia. Profilowanie molekularne w ramach kolekcji HROG obejmuje ocenę parametrów istotnych klinicznie, takich jak metylacja promotora MGMT, status amplifikacji EGFR oraz analiza mutacji kluczowych genów, w tym TP53, IDH1/2, KRAS i BRAF, co potwierdza zachowanie zmian genomowych charakterystycznych dla nowotworu w hodowli.

HROG17 T1 M1 został wykorzystany do oceny wrażliwości na standardowe leki stosowane w leczeniu glejaka wielopostaciowego, w tym alkilujące środki chemioterapeutyczne i dodatkowe związki celowane. Analizy porównawcze modeli HROG wskazują, że hodowle o niskiej liczbie pasażów zachowują stabilną morfologię, kinetykę wzrostu i profile odpowiedzi na leki w porównaniu z wczesnymi pasażami. Jako model glejaka wielopostaciowego pochodzący od pacjenta, o niskiej liczbie pasażów, HROG17 T1 M1 stanowi klinicznie istotną platformę in vitro do badania biologii nowotworu, odpowiedzi terapeutycznej i heterogenności między nowotworami w glejakach wysokiego stopnia złośliwości.

**Organism** Człowiek**Tissue** Mózg**Disease** Glejak wielopostaciowy**Charakterystyka****Age** 70 lat**Gender** Mężczyzna**Ethnicity** Kaukaski**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

**Komórki HROG17 T1 M1 | 300875**

<b>Citation</b>	HROG17 T1 M1 (numer katalogowy Cytion 300875)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_B7FQ
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

**Dane biomolekularne****Obsługa**

<b>Culture Medium</b>	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 NaHCO <sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Uzupełnić podłoże 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	TrypLE Express, 37°C, 10 min,
<b>Subculturing</b>	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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
<b>Freeze medium</b>	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 HROG17 T1 M1 | 300875****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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki HROG17 T1 M1 | 300875****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.

**Profil STR**

**Amelogenin:** x,y  
**CSF1PO:** 10,12  
**D13S317:** 11  
**D16S539:** 13  
**D5S818:** 9,12  
**D7S820:** 7,8  
**TH01:** 6  
**TPOX:** 9  
**vWA:** 14,17  
**D3S1358:** 15,17  
**D21S11:** 29,32.2  
**D18S51:** 16  
**Penta E:** 9,16  
**Penta D:** 12  
**D8S1179:** 15,16  
**FGA:** 21  
**D1S1656:** 17,17.3  
**D6S1043:** 12,14  
**D2S1338:** 19,25  
**D12S391:** 22,23  
**D19S433:** 12

**Komórki HROG17 T1 M1 | 300875**

**Allele HLA**

**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