

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

Citation	HROG17 T1 M1 (numer katalogowy Cytion 300875)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FQ
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 NaHCO ₃ (numer artykułu Cytion 820400a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS
Dissociation Reagent	TrypLE Express, 37°C, 10 min,
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. Odrzucić 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 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°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

Brak

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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki 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