

HROG06 T0 M2 Bunky | 300883

Všeobecné informácie

Description

HROG06 T0 M2 je primárna ľudská bunková línia glioblastoma multiforme (GBM) vytvorená z čerstvo odstráneného nádorového tkaniva dospelého pacienta s diagnózou glioblastomu stupňa IV podľa WHO. Označenie „T0“ znamená, že vzorka nádoru bola odobratá pri počiatocnom chirurgickom zákroku, zatiaľ čo „M2“ označuje druhý nezávisle vytvorený in vitro model odvodený z toho istého primárneho nádoru. Bunka bola vyvinutá v rámci platformy HROG (Hansestadt Rostock Glioma), ktorá sa zameriava na vytváranie kultúr gliómov s ultra nízkym počtom pasáží, ktoré zachovávajú biologické a molekulárne charakteristiky pôvodného nádoru pacienta.

HROG06 T0 M2 rastie adhezívne za štandardných kultivačných podmienok a vykazuje vretenovitou morfológiu podobnú fibroblastom, typickú pre primárne kultúry GBM. Imunofenotypové analýzy v rámci série HROG preukazujú expresiu markerov neurálnej a gliálnej línie, ako sú gliálny fibrilárny kyselý proteín (GFAP), nestín a vimentín, čo potvrdzuje astrocytárny pôvod nádoru. Molekulárna charakterizácia v rámci platformy HROG zahŕňa hodnotenie klinicky relevantných biomarkerov, ako je stav metylácie promotora MGMT, amplifikácia EGFR a mutačné profilovanie génov vrátane TP53, IDH1/2, KRAS a BRAF, čo potvrdzuje zachovanie genomických zmien spojených s nádorom v kultúrach s nízkym počtom pasáží.

HROG06 T0 M2 sa používa na in vitro hodnotenie terapeutických reakcií na štandardnú liečbu glioblastómu, vrátane alkylujúcich chemoterapeutických látok, ako aj cieľných inhibítorov. Porovnávacie analýzy v rámci kolekcie HROG poukazujú na stabilnú morfológiu, reprodukovateľnú kinetiku rastu a konzistentné profily citlivosti na lieky v raných pasážach, čo potvrdzuje jej vhodnosť ako translačného výskumného modelu. Ako bunka GBM s nízkym počtom pasáží odvodená od pacienta poskytuje HROG06 T0 M2 klinicky relevantnú platformu na štúdium biológie glioblastómu, heterogenity nádorov a mechanizmov rezistencie na liečbu.

Organism Ľudské

Tissue Mozog

Disease Glioblastóm

Charakteristika

Ethnicity Kaukazský

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation HROG06 T0 M2 (katalógové číslo Cytion 300883)

Biosafety level 1

HROG06 T0 M2 Bunky | 300883**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Biomolekulárne údaje****Spracovanie****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-glutamínu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame 50 % bazálne médium + 40 % FBS + 10 % DMSO alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

HROG06 T0 M2 Bunky | 300883

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri $300 \times g$ počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

HROG06 T0 M2 Bunky | 300883

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.