

**HROG33 T0 M1 Bunky | 300878****Všeobecné informácie****Description**

HROG33 T0 M1 je primárna ľudská bunková línia glioblastoma multiforme (GBM) vytvorená z čerstvo odstráneného nádorového tkaniva dospelá pacientky s glioblastómom stupňa IV podľa WHO lokalizovaným v ľavej okcipitotemporálnej oblasti. Označenie „T0“ sa vzťahuje na primárny nádor pri počiatkovej diagnóze a „M1“ označuje zodpovedajúci in vitro model odvodený z tejto vzorky. Bunka bola vytvorená ako súčasť systematického úsilia o vytvorenie kultúr GBM s ultra nízkym počtom pasáží z čerstvého aj vitálne kryokonzervovaného nádorového materiálu s cieľom zachovať molekulárne a funkčné charakteristiky špecifické pre daného pacienta.

HROG33 T0 M1 vykazuje adhezívny rast s morfológiou podobnou fibroblastom, typickou pre primárne kultúry GBM. Bunky tvoria monovrstvu a vykazujú konzistentnú proliferáciu in vitro. V porovnávacích štúdiách párových kultúr odvodených z čerstvého a kryokonzervovaného nádorového tkaniva neboli zaznamenané žiadne významné rozdiely v morfológii, kinetike rastu ani reakcii na lieky. Imunofenotypová charakteristika reprezentatívnych bunkových línií HROG preukázala expresiu markerov spojených s neurálnou líniou, vrátane gliál fibrillary acidic protein (GFAP), nestinu a vimentínu, čo je v súlade s fenotypom odvodeným z gliómu. Molekulárne analýzy vykonané v rámci série HROG zahŕňali hodnotenie metylácie promotora MGMT, amplifikácie EGFR a mutačného stavu TP53, IDH1/2, KRAS a BRAF, čo potvrdzuje zachovanie tumor-špecifických genomických vlastností v etablovaných kultúrach.

Funkčne boli bunky odvodené z HROG hodnotené z hľadiska citlivosti na štandardnú liečbu a skúmané látky používané v terapii GBM, vrátane temozolomidu, BCNU (karmustínu), vinkristínu a imatinibu. Profily reakcie na lieky u párov zodpovedajúcich buniek indikovali stabilné a reprodukovateľné farmakologické správanie po kryokonzervácii tkaniva. Ako primárny model GBM s ultra nízkym počtom pasáží poskytuje HROG33 T0 M1 klinicky relevantný in vitro systém na skúmanie biológie glioblastómu, predikciu terapeutického odpovede a heterogenitu nádorov špecifických pre jednotlivých pacientov, pričom minimalizuje artefakty spojené s dlhodobou nepretržitou adaptáciou bunkových línií.

**Organism**      Ľudské**Tissue**            Mozog**Disease**           Glioblastóm**Charakteristika****Age**                46 rokov**Gender**           Ženy**Ethnicity**        Kaukazský**Growth properties**      Adherent

**HROG33 T0 M1 Bunky | 300878****Regulačné údaje****Citation** HROG33 T0 M1 (katalógové číslo Cytion 300878)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_4U48**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 NaHCO<sub>3</sub> (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.

## HROG33 T0 M1 Bunky | 300878

### 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 °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 °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 x 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 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , 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 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

## HROG33 T0 M1 Bunky | 300878

### 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.