

HROG17 T1 M1 Bunky | 300875**Všeobecné informácie****Description**

HROG17 T1 M1 je primárna ľudská bunková línia glioblastoma multiforme (GBM) vytvorená z nádorovej vzorky odobratej dospelému pacientovi s diagnózou glioblastomu stupňa IV podľa WHO. Označenie „T1“ znamená, že vzorka bola odobratá pri prvom chirurgickom zákroku, zatiaľ čo „M1“ označuje zodpovedajúci in vitro model odvodený z tohto nádoru. Bunka bola vytvorená v rámci platformy HROG (Hansestadt Rostock Glioma), ktorá sa zameriava na vytvorenie kultúr gliómov s ultra nízkym počtom pasáží, ktoré zachovávajú molekulárne a fenotypové charakteristiky špecifické pre daného pacienta.

HROG17 T1 M1 rastie adhezívne za štandardných kultivačných podmienok a vykazuje morfológiu podobnú fibroblastom, typickú pre primárne kultúry GBM. Imunofenotypová charakteristika línií odvodených od HROG preukazuje expresiu markerov spojených s gliálnou a neurónovou líniou, ako je gliálny fibrilárny kyselý proteín (GFAP), nestín a vimentín, čo je v súlade s pôvodom astrocytového nádoru vysokého stupňa. Molekulárne profilovanie v rámci kolekcie HROG zahŕňa hodnotenie klinicky relevantných parametrov, ako je metylácia promotora MGMT, stav amplifikácie EGFR a mutačná analýza kľúčových génov, vrátane TP53, IDH1/2, KRAS a BRAF, čo podporuje zachovanie nádorovo špecifických genomických zmien v kultúre.

HROG17 T1 M1 sa používa na hodnotenie citlivosti na štandardné liečivá pre glioblastóm, vrátane alkylujúcich chemoterapeutík a ďalších cielených zlúčenín. Porovnávacie analýzy medzi modelmi HROG naznačujú, že kultúry s nízkym počtom pasáží si zachovávajú stabilnú morfológiu, kinetiku rastu a profily reakcie na lieky v porovnaní s ranými pasážami. Ako model glioblastómu s nízkym počtom pasáží odvodený od pacienta poskytuje HROG17 T1 M1 klinicky relevantnú in vitro platformu na štúdium biológie nádoru, terapeutickú reakciu a intertumorálnu heterogenitu pri vysokostupňových gliómoch.

Organism Ľudské**Tissue** Mozog**Disease** Glioblastóm**Charakteristika****Age** 70 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje**

HROG17 T1 M1 Bunky | 300875**Citation** HROG17 T1 M1 (katalógové číslo Cytion 300875)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FQ**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** Doplníte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** TrypLE Express, 37 °C, 10 min,**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.

HROG17 T1 M1 Bunky | 300875**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 % 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.

HROG17 T1 M1 Bunky | 300875

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.

Alely 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