

HROG06 T0 M2 celice | 300883**Splošne informacije****Description**

HROG06 T0 M2 je primarna človeška celična linija glioblastoma multiforme (GBM), vzpostavljena iz sveže odstranjenega tumorja odraslega pacienta, pri katerem je bila diagnosticirana glioblastoma stopnje IV po klasifikaciji WHO. Oznaka „T0“ pomeni, da je bil vzorec tumorja pridobljen med prvim kirurškim posegom, medtem ko „M2“ pomeni drugi neodvisno ustvarjeni in vitro model, pridobljen iz istega primarnega tumorja. Celična linija je bila razvita v okviru platforme HROG (Hansestadt Rostock Glioma), ki se osredotoča na ustvarjanje gliomskih kultur z izredno nizkim številom prehodov, ki ohranjajo biološke in molekularne lastnosti originalnega tumorja pacienta.

HROG06 T0 M2 raste adhezivno v standardiziranih kultiviranih pogojih in kaže vretenasto, fibroblastom podobno morfolologijo, značilno za primarne kulture GBM. Imunofenotipske analize v seriji HROG kažejo izražanje markerjev nevralne in glialne linije, kot so glialni fibrilni kisli protein (GFAP), nestin in vimentin, kar podpira astrocitni izvor tumorja. Molekularna karakterizacija znotraj platforme HROG vključuje oceno klinično relevantnih biomarkerjev, kot so status metilacije promotora MGMT, amplifikacija EGFR in mutacijski profil genov, vključno s TP53, IDH1/2, KRAS in BRAF, kar potrjuje ohranitev genomskih sprememb, povezanih s tumorjem, v kulturah zgodnjih pasov.

HROG06 T0 M2 se je uporabljal za in vitro oceno terapevtskih odzivov na standardna zdravljenja glioblastoma, vključno z alkilirajočimi kemoterapevtskimi sredstvi in ciljnimi zaviralci. Primerjalne analize znotraj zbirke HROG kažejo stabilno morfolologijo, reproduktivno kinetično rast in dosledne profile občutljivosti na zdravila v zgodnjih pasah, kar podpira njegovo primernost kot translacijski raziskovalni model. Kot celična linija GBM z nizkim številom pasov, pridobljena iz pacientov, HROG06 T0 M2 zagotavlja klinično relevantno platformo za preučevanje biologije glioblastoma, heterogenosti tumorja in mehanizmov odpornosti na zdravljenje.

Organism Človek**Tissue** Možgani**Disease** Glioblastom**Značilnosti****Ethnicity** Kavkaški**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** HROG06 T0 M2 (katalogska številka Cytion 300883)**Biosafety level** 1

HROG06 T0 M2 celice | 300883**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo 50 % osnovno gojišče + 40 % FBS + 10 % DMSO ali CM-1 (kataloška številka Cytion 800100), ki vsebuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, ki ga povzroča krio.

HROG06 T0 M2 celice | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HROG06 T0 M2 celice | 300883

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.