

**HROG33 T0 M1 Celice | 300878****Splošne informacije****Description**

HROG33 T0 M1 je primarna človeška glioblastoma multiforme (GBM) celična linija, vzpostavljena iz sveže odstranjenega tumorja odrasle ženske pacientke z glioblastomom stopnje IV po klasifikaciji WHO, ki se nahaja v levi okcipitotemporalni regiji. Oznaka „T0“ se nanaša na primarni tumor ob prvotni diagnozi, „M1“ pa označuje ustrezen in vitro model, pridobljen iz tega vzorca. Celična linija je bila ustvarjena v okviru sistematičnih prizadevanj za vzpostavitev kultur GBM z izredno nizkim številom prehodov iz svežega in vitalno kriokonzerviranega tumorja, s ciljem ohraniti molekularne in funkcionalne značilnosti, specifične za posameznega pacienta.

HROG33 T0 M1 kaže adhezivno rast z morfologijo, podobno fibroblastom, ki je značilna za primarne kulture GBM. Celice tvorijo monosloj in kažejo konsistentno proliferativno sposobnost in vitro. V primerjalni študiji vzpostavitve pari kultur, pridobljenih iz svežega in kriokonzerviranega tumorja, niso pokazali pomembnih razlik v morfologiji, kinetičnem rasti ali odzivnosti na zdravila. Imunofenotipska karakterizacija reprezentativnih celičnih linij HROG je pokazala izražanje markerjev, povezanih z nevrološko linijo, vključno z glialnim fibrilarnim kislim proteinom (GFAP), nestinom in vimentinom, kar je skladno s fenotipom, pridobljenim iz glioma. Molekularne analize, izvedene v seriji HROG, so vključevale oceno metilacije promotora MGMT, amplifikacije EGFR in mutacijskega statusa TP53, IDH1/2, KRAS in BRAF, kar podpira ohranitev tumorskih genomskih značilnosti v vzpostavljenih kulturah.

Funkcionalno so bile celične linije, izpeljane iz HROG, ocenjene glede občutljivosti na standardna in raziskovalna zdravila, ki se uporabljajo v terapiji GBM, vključno s temozolomidom, BCNU (karmustinom), vinkristinom in imatinibom. Profili odziva na zdravila ujemaajočih se parov celičnih linij so pokazali stabilno in reproduktivno farmakološko vedenje po krioprezervaciji tkiva. Kot primarni model GBM z izredno nizkim številom prehodov HROG33 T0 M1 zagotavlja klinično relevanten in vitro sistem za preučevanje biologije glioblastoma, napovedovanje terapevtskega odziva in heterogenosti tumorja, specifične za posameznega pacienta, hkrati pa zmanjšuje artefakte, povezane z dolgotrajno neprekinjeno prilagajanje celične linije.

**Organism** Človek**Tissue** Možgani**Disease** Glioblastom**Značilnosti****Age** 46 let**Gender** Ženske**Ethnicity** Kavkaški**Growth properties** Pripadajoče

**HROG33 T0 M1 Celice | 300878****Regulativni podatki****Citation** HROG33 T0 M1 (katalogska številka Cytion 300878)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_4U48**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 NaHCO<sub>3</sub> (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 (katalogska številka Cytion 800100), ki vsebuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, ki ga povzroča krio.

## HROG33 T0 M1 Celice | 300878

### 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 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

### 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.

## HROG33 T0 M1 Celice | 300878

### 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  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  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.