

HROG12 T0 M1 Celice | 300882**Splošne informacije****Description**

HROG12 T0 M1 je primarna človeška glioblastoma multiforme (GBM) celična linija, 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 pridobljen med prvim kirurškim posegom, medtem ko „M1“ pomeni ustrezen in vitro model, pridobljen iz tega primarnega tumorja. Celična linija je bila ustvarjena v okviru modelne platforme HROG (Hansestadt Rostock Glioma), ki se osredotoča na ustvarjanje gliomskih kultur z izredno nizkim številom prehodov, ki ohranjajo molekularne in biološke značilnosti, specifične za posameznega pacienta.

HROG12 T0 M1 kaže adhezivno rast v standardnih kultiviranih pogojih in ima fibroblastno morfologijo, značilno za primarne kulture GBM. Imunofenotipska karakterizacija celičnih linij, pridobljenih iz HROG, kaže izražanje markerjev nevralne in glialne linije, kot so glialni fibrilni kisli protein (GFAP), nestin in vimentin, kar podpira astrocitni izvor tumorja. V zbirki HROG molekularno profiliranje vključuje oceno klinično relevantnih biomarkerjev, kot so metilacija promotora MGMT, status amplifikacije EGFR in mutacijska analiza genov, vključno s TP53, IDH1/2, KRAS in BRAF, kar potrjuje ohranitev genomskih sprememb, povezanih s tumorjem, v kulturah z zgodnjim preходом.

HROG12 T0 M1 se je uporabljal za in vitro oceno terapevtskih odzivov na standardna zdravljenja glioblastoma, vključno z alkilirajočimi sredstvi, kot tudi raziskovalnimi ciljnimi terapijami. Primerjalne analize med modeli HROG kažejo stabilno morfologijo, reproduktivno kinetično rast in dosledne profile občutljivosti na zdravila v zgodnjih pasah. Kot model glioblastoma z nizkim številom pasov, pridobljen iz pacientov, HROG12 T0 M1 zagotavlja klinično relevantno platformo za preučevanje biologije tumorja, molekularne heterogenosti in mehanizmov terapevtske odpornosti pri visoko stopnjo gliomu.

Organism Človek**Tissue** Možgani**Disease** Glioblastom**Značilnosti****Ethnicity** Kavkaški**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** HROG12 T0 M1 (katalogska številka Cytion 300882)**Biosafety level** 1

HROG12 T0 M1 Celice | 300882**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FR**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.

HROG12 T0 M1 Celice | 300882

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.

HROG12 T0 M1 Celice | 300882

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.