

HROG17 T1 M1 celice | 300875**Splošne informacije****Description**

HROG17 T1 M1 je primarna človeška glioblastoma multiforme (GBM) celična linija, vzpostavljena iz tumorja, odstranjenega iz odraslega pacienta, pri katerem je bila diagnosticirana glioblastoma stopnje IV po klasifikaciji WHO. Oznaka „T1“ pomeni, da je bil vzorec pridobljen ob prvem kirurškem posegu, medtem ko „M1“ označuje ustrezen in vitro model, pridobljen iz tega tumorja. Celična linija je bila ustvarjena v okviru platforme HROG (Hansestadt Rostock Glioma), ki se osredotoča na ustvarjanje gliomskih kultur z izredno nizkim številom prehodov, ki ohranjajo molekularne in fenotipske značilnosti, specifične za posameznega bolnika.

HROG17 T1 M1 raste v standardnih kultiviranih pogojih in kaže fibroblastno morfolologijo, značilno za primarne kulture GBM. Imunofenotipska karakterizacija linij, pridobljenih iz HROG, kaže izražanje markerjev, povezanih z glialno in nevrnalno linijo, kot so glialni fibrilni kisli protein (GFAP), nestin in vimentin, kar je skladno z visoko stopnjo astrocitnega tumorja. Molekularno profiliranje znotraj zbirke HROG vključuje oceno klinično relevantnih parametrov, kot so metilacija promotora MGMT, status amplifikacije EGFR in mutacijska analiza ključnih genov, vključno s TP53, IDH1/2, KRAS in BRAF, kar podpira ohranjanje tumorskih genomske sprememb v kulturi.

HROG17 T1 M1 se je uporabil za oceno občutljivosti na standardna zdravila za glioblastom, vključno z alkilirajočimi kemoterapevtiki in dodatnimi ciljnimi spojinami. Primerjalne analize med modeli HROG kažejo, da kulture z nizkim številom prehodov ohranjajo stabilno morfolologijo, kinetično rast in profile odziva na zdravila v zgodnjih prehodih. Kot model glioblastoma z nizkim številom prehodov, pridobljen iz pacienta, HROG17 T1 M1 zagotavlja klinično relevantno in vitro platformo za preučevanje biologije tumorja, terapevtskega odziva in medtumorske heterogenosti pri visoki stopnji gliomu.

Organism Človek**Tissue** Možgani**Disease** Glioblastom**Značilnosti****Age** 70 let**Gender** Moški**Ethnicity** Kavkaški**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** HROG17 T1 M1 (katalogska številka Cytion 300875)

HROG17 T1 M1 celice | 300875**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FQ**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** TrypLE Express, 37 °C, 10 min,**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.

HROG17 T1 M1 celice | 300875

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

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.

HROG17 T1 M1 celice | 300875

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 °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 °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 izključuje 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.

Aleli 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