

HROG33 T0 M1 Клітини | 300878

Загальна інформація

Description

HROG33 T0 M1 — це первинна клітинна лінія мультиформної гліобластоми (GBM) людини, створена з нещодавно видаленої пухлинної тканини дорослої пацієнтки з гліобластомою IV ступеня за класифікацією WHO, розташованою в лівосторонній потиличній та скроневій ділянці. Позначення «T0» відноситься до первинної пухлини при первинній діагностиці, а «M1» позначає відповідну *in vitro* модель, отриману з цього зразка. Клітинна лінія була створена в рамках систематичних зусиль по створенню культур GBM з наднизьким пасажем як зі свіжого, так і з вітально криоконсервованого пухлинного матеріалу з метою збереження молекулярних і функціональних характеристик, специфічних для пацієнта.

HROG33 T0 M1 демонструє адгезивний ріст з фібробластоподібною морфологією, типовою для первинних культур GBM. Клітини утворюють моношар і демонструють стабільну проліферативну здатність *in vitro*. У порівняльному дослідженні, парні культури, отримані зі свіжої та криоконсервованої пухлинної тканини, не показали значних відмінностей у морфології, кінетиці росту або чутливості до ліків. Імунофенотипна характеристика репрезентативних клітинних ліній HROG продемонструвала експресію маркерів, пов'язаних з нервовою лінією, включаючи гліальний фібрилярний кислий білок (GFAP), нестин і віментин, що відповідає фенотипу, отриманому з гліоми. Молекулярні аналізи, проведені в серії HROG, включали оцінку метилювання промотора MGMT, ампліфікації EGFR та мутаційного статусу TP53, IDH1/2, KRAS та BRAF, що підтверджує збереження специфічних для пухлин геномних особливостей у встановлених культурах.

Функціонально клітинні лінії, похідні від HROG, були оцінені на чутливість до стандартних та досліджуваних препаратів, що використовуються в терапії GBM, включаючи темозоломід, BCNU (кармустин), вінкрисин та іматиніб. Профілі реакції на ліки пар клітинних ліній, що відповідають одна одній, показали стабільну та відтворювану фармакологічну поведінку після криоконсервації тканин. Як модель первинної GBM з наднизьким пасажем, HROG33 T0 M1 забезпечує клінічно релевантну систему *in vitro* для дослідження біології гліобластоми, прогнозування терапевтичної відповіді та гетерогенності пухлин, специфічної для пацієнта, мінімізуючи артефакти, пов'язані з довготривалою безперервною адаптацією клітинної лінії.

Organism Людина

Tissue Мозок

Disease Гліобlastoma

Характеристики

Age 46 років

Gender Жінка

Ethnicity Кавказець

HROG33 T0 M1 Клітини | 300878

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation HROG33 T0 M1 (номер за каталогом Cytion 300878)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4U48

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO₃ (цит. номер 820400a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Freeze medium Як середовище кріоконсервування ми використовуємо 50% базальне середовище + 40% FBS + 10% ДМСО або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для покращення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

HROG33 T0 M1 Клітини | 300878

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

HROG33 T0 M1 Клітини | 300878

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.