HROG33 T0 M1

300878

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

HROG33 T0 M1 ir primārā cilvēka glioblastoma multiforme (GBM) šūnu līnija, kas izveidota no svaigi izgriezta audzēja audiem pieaugušai sievietei ar IV pakāpes glioblastomu, kas atrodas kreisajā pakauša-smadzeņu daļā. Apzīmējums „T0" attiecas uz primāro audzēju sākotnējā diagnozē, bet „M1" apzīmē atbilstošo in vitro modeli, kas iegūts no šī parauga. Šūnu līnija tika izveidota kā daļa no sistemātiskām pūlēm izveidot ultra-zemas pasāžas GBM kultūras gan no svaiga, gan vitāli kriokonservēta audzēja materiāla, ar mērķi saglabāt pacientam specifiskas molekulārās un funkcionālās īpašības.
HROG33 T0 M1 uzrāda adhezīvu augšanu ar fibroblastveida morfoloģiju, kas ir tipiska primārajām GBM kultūrām. Šūnas veido monoslāni un in vitro uzrāda stabilu proliferatīvo spēju. Salīdzinošajā izveides pētījumā pāriem kultūrām, kas iegūtas no svaiga un kriokonservēta audzēja audu, nebija novērotas nozīmīgas atšķirības morfoloģijā, augšanas kinētikā vai reakcijā uz zālēm. Reprezentatīvo HROG šūnu līniju imunofenotipiskā raksturošana parādīja neironu cilts līnijas marķieru ekspresiju, tostarp gliofibrilārā skābā proteīna (GFAP), nestīna un vimentīna, kas atbilst gliomas fenotipam. HROG sērijā veiktās molekulārās analīzes ietvēra MGMT promotora metilācijas, EGFR amplifikācijas un TP53, IDH1/2, KRAS un BRAF mutāciju statusa novērtējumu, kas apstiprināja audzējam specifisku genomisko iezīmju saglabāšanos izveidotajās kultūrās.
Funkcionāli HROG atvasinātās šūnu līnijas ir novērtētas attiecībā uz jutību pret standarta aprūpes un izpētes līdzekļiem, ko izmanto GBM terapijā, tostarp temozolomīdu, BCNU (karmustīnu), vinkristīnu un imatinibu. Atbilstošo šūnu līniju pāru zāļu reakcijas profili liecināja par stabilu un reproducējamu farmakoloģisko uzvedību pēc audu kriokonservācijas. Kā primārais GBM modelis ar ļoti zemu pasāžu skaitu, HROG33 T0 M1 nodrošina klīniski nozīmīgu in vitro sistēmu glioblastomas bioloģijas izpētei, terapeitiskās reakcijas prognozēšanai un pacientam specifiskas audzēja heterogenitātes izpētei, vienlaikus samazinot artefaktus, kas saistīti ar ilgtermiņa nepārtrauktu šūnu līnijas adaptāciju.

Audums	Smadzenes
Slimība	Glioblastoma

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Sieviete
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
Bioloģiskās drošības līmenis	1

IDENTIFIKATORI

Atsauce

HROG33 T0 M1 (Cytion kataloga numurs 300878)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_4U48

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO3 (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase

Pārstādīšana

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 50 % bāzes barotni + 40 % FBS + 10 % DMSO vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu reģenerāciju un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	46 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Tiek piemēroti līgumi ar trešajām personām	Yes