

**HROG33 T0 M1 Celler | 300878****Generel information****Description**

HROG33 T0 M1 er en primær human glioblastoma multiforme (GBM)-cellelinje etableret ud fra frisk resekeret tumurvæv fra en voksen kvindelig patient med WHO-grad IV glioblastoma lokaliseret i venstre occipitotemporal region. Betegnelsen "T0" henviser til den primære tumor ved den første diagnose, og "M1" angiver den tilsvarende in vitro-model, der er afledt af denne prøve. Cellelinjen blev genereret som en del af en systematisk indsats for at etablere ultra-lav passage GBM-kulturer fra både frisk og vitalt kryokonservet tumormateriale med det formål at bevare patientspecifikke molekylære og funktionelle egenskaber.

HROG33 T0 M1 udviser adhærent vækst med en fibroblastlignende morfologi, der er typisk for primære GBM-kulturer. Cellerne danner et monolag og udviser en konsistent proliferativ kapacitet in vitro. I den sammenlignende etableringsundersøgelse viste parrede kulturer afledt af frisk og kryokonservet tumurvæv ingen signifikante forskelle i morfologi, vækstkinetik eller lægemiddelrespons. Immunofenotypisk karakterisering af repræsentative HROG-cellelinjer viste ekspresion af neurale linjeassocierede markører, herunder glial fibrillært surt protein (GFAP), nestin og vimentin, i overensstemmelse med en gliomafledt fænotype. Molekylære analyser udført på tværs af HROG-serien omfattede vurdering af MGMT-promotor-methylering, EGFR-amplifikation og mutationsstatus for TP53, IDH1/2, KRAS og BRAF, hvilket understøtter bevarelsen af tumorspecifikke genomiske træk i etablerede kulturer.

Funktionelt er HROG-afledte cellelinjer blevet evalueret for følsomhed over for standardbehandling og forsøgsstoffer, der anvendes i GBM-terapi, herunder temozolomid, BCNU (carmustin), vincristin og imatinib. Lægemiddelresponsprofiler for matchede celleliniepar viste stabil og reproducerbar farmakologisk adfærd efter vævskryopræserving. Som en primær GBM-model med ultralav passage giver HROG33 T0 M1 et klinisk relevant in vitro-system til undersøgelse af glioblastombiologi, forudsigelse af terapeutisk respons og patientspecifik tumorheterogenitet, samtidig med at artefakter forbundet med langvarig kontinuerlig cellelinjetilpasning minimeres.

**Organism** Menneske**Tissue** Hjerne**Disease** Glioblastom**Karakteristika****Age** 46 år**Gender** Kvinde**Ethnicity** Kaukasisk**Growth properties** Vedhæftende

**HROG33 T0 M1 Celler | 300878****Regulatoriske data****Citation** HROG33 T0 M1 (Cytion katalognummer 300878)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_4U48**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.**Freeze medium** Som kryopræservationsmedium bruger vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

## HROG33 T0 M1 Celler | 300878

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befugtet atmosfære.

### Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

### Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

## HROG33 T0 M1 Celler | 300878

### Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

### Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

## Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.