

**HROG06 T0 M2-Zellen | 300883**

**Allgemeine Informationen**

**Description**

HROG06 T0 M2 ist eine primäre humane Glioblastoma multiforme (GBM)-Zelllinie, die aus frisch reseziertem Tumorgewebe eines erwachsenen Patienten gewonnen wurde, bei dem ein Glioblastom des WHO-Grades IV diagnostiziert wurde. Die Bezeichnung „T0“ gibt an, dass die Tumorprobe bei der ersten chirurgischen Intervention entnommen wurde, während „M2“ sich auf das zweite unabhängig erzeugte In-vitro-Modell bezieht, das aus demselben Primärtumor gewonnen wurde. Die Zelllinie wurde innerhalb der HROG-Plattform (Hansestadt Rostock Glioma) entwickelt, deren Schwerpunkt auf der Erzeugung von Gliomkulturen mit extrem niedriger Passagenzahl liegt, die die biologischen und molekularen Eigenschaften des ursprünglichen Tumors des Patienten bewahren.

HROG06 T0 M2 wächst unter standardisierten Kulturbedingungen adhärent und weist eine spindelförmige, fibroblastenähnliche Morphologie auf, die typisch für primäre GBM-Kulturen ist. Immunphänotypische Analysen der HROG-Serie zeigen die Expression von Markern der neuralen und glialen Linie wie gliales fibrilläres saures Protein (GFAP), Nestin und Vimentin, was den astrozytären Ursprung des Tumors bestätigt. Die molekulare Charakterisierung innerhalb der HROG-Plattform umfasst die Bewertung klinisch relevanter Biomarker wie den MGMT-Promotor-Methylierungsstatus, die EGFR-Amplifikation und das Mutationsprofil von Genen wie TP53, IDH1/2, KRAS und BRAF, wodurch die Erhaltung tumorassoziierter genomischer Veränderungen in Kulturen früher Passagen bestätigt wird.

HROG06 T0 M2 wurde für die In-vitro-Bewertung der therapeutischen Reaktionen auf Standardbehandlungen von Glioblastomen verwendet, darunter alkylierende Chemotherapeutika sowie gezielte Inhibitoren. Vergleichende Analysen innerhalb der HROG-Sammlung zeigen eine stabile Morphologie, reproduzierbare Wachstumskinetik und konsistente Arzneimittelsensitivitätsprofile in frühen Passagen, was seine Eignung als translationales Forschungsmodell untermauert. Als patientenabgeleitete GBM-Zelllinie mit geringer Passagenzahl bietet HROG06 T0 M2 eine klinisch relevante Plattform für die Untersuchung der Biologie des Glioblastoms, der Tumorerogenität und der Mechanismen der Therapieresistenz.

**Organism** Menschen

**Tissue** Gehirn

**Disease** Glioblastom

**Merkmale**

**Ethnicity** Kaukasisch

**Growth properties** Adhärent

**Regulatorische Daten**

**Citation** HROG06 T0 M2 (Cytion Katalognummer 300883)

**HROG06 T0 M2-Zellen | 300883****Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FP**Depositor** M. Linnebacher**Biomolekulare Daten****Handhabung****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 Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion-Artikelnummer 820400a)**Supplements** Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhärennten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.**Freeze medium** Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir 50 % Basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO oder CM-1 (Cytion-Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektiva und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und den kryoinduzierten Stress zu verringern.

## HROG06 T0 M2-Zellen | 300883

### Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befeuchtete Atmosphäre.

### Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

### Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

## HROG06 T0 M2-Zellen | 300883

### Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

### Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.