

HROG06 T0 M2 Cellule | 300883**Informazioni generali****Description**

HROG06 T0 M2 è una linea cellulare primaria di glioblastoma multiforme (GBM) umano ottenuta da tessuto tumorale appena asportato da un paziente adulto con diagnosi di glioblastoma di grado IV secondo la classificazione WHO. La designazione "T0" indica che il campione tumorale è stato ottenuto durante il primo intervento chirurgico, mentre "M2" si riferisce al secondo modello in vitro generato in modo indipendente e derivato dallo stesso tumore primario. La linea cellulare è stata sviluppata all'interno della piattaforma HROG (Hansestadt Rostock Glioma), che si concentra sulla generazione di colture di glioma a passaggi ultra-bassi che preservano le caratteristiche biologiche e molecolari del tumore originale del paziente.

HROG06 T0 M2 cresce in modo aderente in condizioni di coltura standardizzate e presenta una morfologia fusiforme, simile a quella dei fibroblasti, tipica delle colture primarie di GBM. Le analisi immunofenotipiche della serie HROG dimostrano l'espressione di marcatori della linea neurale e gliale, come la proteina acida fibrillare gliale (GFAP), la nestina e la vimentina, a sostegno dell'origine astrocitaria del tumore. La caratterizzazione molecolare all'interno della piattaforma HROG include la valutazione di biomarcatori clinicamente rilevanti come lo stato di metilazione del promotore MGMT, l'amplificazione dell'EGFR e il profilo mutazionale di geni quali TP53, IDH1/2, KRAS e BRAF, confermando la conservazione delle alterazioni genomiche associate al tumore nelle colture a passaggio precoce.

HROG06 T0 M2 è stato utilizzato per la valutazione in vitro delle risposte terapeutiche ai trattamenti standard per il glioblastoma, compresi gli agenti chemioterapici alchilanti e gli inibitori mirati. Le analisi comparative all'interno della collezione HROG indicano una morfologia stabile, cinetica di crescita riproducibile e profili di sensibilità ai farmaci coerenti nei primi passaggi, a sostegno della sua idoneità come modello di ricerca traslazionale. In quanto linea cellulare GBM a basso passaggio derivata da pazienti, HROG06 T0 M2 fornisce una piattaforma clinicamente rilevante per lo studio della biologia del glioblastoma, dell'eterogeneità tumorale e dei meccanismi di resistenza al trattamento.

Organism Umano**Tissue** Cervello**Disease** Glioblastoma**Caratteristiche****Ethnicity** Caucasico**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** HROG06 T0 M2 (numero di catalogo Cytion 300883)

HROG06 T0 M2 Cellule | 300883

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FP
Depositor	M. Linnebacher

Dati biomolecolari**Manipolazione**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L di glucosio, w: 2,5 mM di L-Glutammina, w: 15 mM di HEPES, w: 0,5 mM di Sodio piruvato, w: 1,2 g/L di NaHCO ₃ (articolo Cytion numero 820400a)
-----------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
--------------------	---------------------------------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.
---------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo 50% di terreno basale + 40% di FBS + 10% di DMSO, o CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress criodotto.
----------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

HROG06 T0 M2 Cellule | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

HROG06 T0 M2 Cellule | 300883

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.