

HROG33 T0 M1 Cellule | 300878**Informazioni generali****Description**

HROG33 T0 M1 è una linea cellulare primaria di glioblastoma multiforme (GBM) umano ottenuta da tessuto tumorale appena asportato da una paziente adulta affetta da glioblastoma di grado IV secondo la classificazione WHO, localizzato nella regione occipito-temporale sinistra. La designazione "T0" si riferisce al tumore primario alla diagnosi iniziale, mentre "M1" indica il corrispondente modello in vitro derivato da questo campione. La linea cellulare è stata generata nell'ambito di uno sforzo sistematico volto a stabilire colture di GBM a passaggi ultra-bassi da materiale tumorale fresco e crioconservato in modo vitale, con l'obiettivo di preservare le caratteristiche molecolari e funzionali specifiche del paziente.

HROG33 T0 M1 mostra una crescita aderente con una morfologia simile a quella dei fibroblasti tipica delle colture GBM primarie. Le cellule formano un monostrato e mostrano una capacità proliferativa costante in vitro. Nello studio comparativo, le colture appaiate derivate da tessuto tumorale fresco e crioconservato non hanno mostrato differenze significative nella morfologia, nella cinetica di crescita o nella risposta ai farmaci. La caratterizzazione immunofenotipica delle linee cellulari HROG rappresentative ha dimostrato l'espressione di marcatori associati alla linea neurale, tra cui la proteina acida fibrillare gliale (GFAP), la nestina e la vimentina, in linea con un fenotipo derivato dal glioma. Le analisi molecolari eseguite sulla serie HROG includevano la valutazione della metilazione del promotore MGMT, l'amplificazione dell'EGFR e lo stato mutazionale di TP53, IDH1/2, KRAS e BRAF, a sostegno della conservazione delle caratteristiche genomiche specifiche del tumore nelle colture stabilite.

Dal punto di vista funzionale, le linee cellulari derivate da HROG sono state valutate per la sensibilità agli agenti standard di cura e sperimentali utilizzati nella terapia del GBM, tra cui temozolomide, BCNU (carmustina), vincristina e imatinib. I profili di risposta ai farmaci delle coppie di linee cellulari abbinata hanno indicato un comportamento farmacologico stabile e riproducibile dopo la crioconservazione dei tessuti. Come modello GBM primario a passaggi ultra-bassi, HROG33 T0 M1 fornisce un sistema in vitro clinicamente rilevante per lo studio della biologia del glioblastoma, la previsione della risposta terapeutica e l'eterogeneità tumorale specifica del paziente, riducendo al minimo gli artefatti associati all'adattamento continuo a lungo termine delle linee cellulari.

Organism Umano**Tissue** Cervello**Disease** Glioblastoma**Caratteristiche****Age** 46 anni**Gender** Donna**Ethnicity** Caucasico

HROG33 T0 M1 Cellule | 300878

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation HROG33 T0 M1 (numero di catalogo Cytion 300878)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4U48

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 NaHCO₃ (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.

HROG33 T0 M1 Cellule | 300878

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.

HROG33 T0 M1 Cellule | 300878

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.