

Cellule HROG17 T1 M1 | 300875**Informazioni generali****Description**

HROG17 T1 M1 è una linea cellulare primaria di glioblastoma multiforme (GBM) umano ottenuta da un campione tumorale asportato da un paziente adulto con diagnosi di glioblastoma di grado IV secondo la classificazione dell'OMS. La designazione "T1" indica che il campione è stato ottenuto al primo intervento chirurgico, mentre "M1" indica il corrispondente modello in vitro derivato da questo tumore. La linea cellulare è stata generata all'interno della piattaforma HROG (Hansestadt Rostock Glioma), che si concentra sulla creazione di colture di glioma a passaggi ultra-bassi che preservano le caratteristiche molecolari e fenotipiche specifiche del paziente.

HROG17 T1 M1 cresce in modo aderente in condizioni di coltura standard e presenta una morfologia simile a quella dei fibroblasti tipica delle colture primarie di GBM. La caratterizzazione immunofenotipica delle linee derivate da HROG dimostra l'espressione di marcatori associati alla linea gliale e neurale, come la proteina acida fibrillare gliale (GFAP), la nestina e la vimentina, in linea con l'origine tumorale astrocitica di alto grado. Il profilo molecolare all'interno della collezione HROG include la valutazione di parametri clinicamente rilevanti come la metilazione del promotore MGMT, lo stato di amplificazione dell'EGFR e l'analisi mutazionale di geni chiave tra cui TP53, IDH1/2, KRAS e BRAF, a sostegno della conservazione delle alterazioni genomiche specifiche del tumore in coltura.

HROG17 T1 M1 è stato utilizzato per valutare la sensibilità agli agenti standard di cura per il glioblastoma, compresi i chemioterapici alchilanti e ulteriori composti mirati. Analisi comparative tra i modelli HROG indicano che le colture a basso passaggio mantengono una morfologia stabile, cinetica di crescita e profili di risposta ai farmaci nei primi passaggi. In quanto modello di glioblastoma a basso passaggio derivato da pazienti, HROG17 T1 M1 fornisce una piattaforma in vitro clinicamente rilevante per lo studio della biologia tumorale, della risposta terapeutica e dell'eterogeneità intertumorale nel glioma di alto grado.

Organism Umano**Tissue** Cervello**Disease** Glioblastoma**Caratteristiche****Age** 70 anni**Gender** Uomo**Ethnicity** Caucasico**Growth properties** Aderente**Dati normativi**

Cellule HROG17 T1 M1 | 300875

Citation	HROG17 T1 M1 (numero di catalogo Cytion 300875)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FQ
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-Glutamina, 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	TrypLE Express, 37°C, 10 min,
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.

Cellule HROG17 T1 M1 | 300875

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

Nessuno

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.

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.

Cellule HROG17 T1 M1 | 300875

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.

Profilo STR

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 10,12
D13S317: 11
D16S539: 13
D5S818: 9,12
D7S820: 7,8
TH01: 6
TPOX: 9
vWA: 14,17
D3S1358: 15,17
D21S11: 29,32.2
D18S51: 16
Penta E: 9,16
Penta D: 12
D8S1179: 15,16
FGA: 21
D1S1656: 17,17.3
D6S1043: 12,14
D2S1338: 19,25
D12S391: 22,23
D19S433: 12

Alleli HLA

A*: '11:01:01, '66:01:01
B*: '14:02:01, '40:02:01
C*: '01:02:01, '08:02:01
DRB1*: '01:02:01, '12:01:01
DQA1*: '01:01:02, '05:05:01
DQB1*: '03:01:01, '05:01:01
DPA1*: 0,04375, 0,084027778
DPB1*: '04:01:01, '11:01:01
E: '01:01, '01:03