

HROG06 T0 M2 Celler | 300883**Generell informasjon****Description**

HROG06 T0 M2 er en primær human glioblastoma multiforme (GBM) cellelinje etablert fra ferskt resektet tumorvev fra en voksen pasient diagnostisert med WHO grad IV glioblastoma. Betegnelsen «T0» indikerer at tumorprøven ble hentet ved den første kirurgiske inngrepet, mens «M2» refererer til den andre uavhengig genererte in vitro-modellen avledet fra samme primære tumor. Cellelinjen ble utviklet innenfor HROG-plattformen (Hansestadt Rostock Glioma), som fokuserer på å generere gliomkulturer med ultralav passasje som bevarer de biologiske og molekylære egenskapene til den opprinnelige pasienttumoren.

HROG06 T0 M2 vokser vedheftende under standardiserte dyrkningsforhold og viser en spindelformet, fibroblastlignende morfologi som er typisk for primære GBM-kulturer. Immunofenotypiske analyser på tvers av HROG-serien viser uttrykk for nevralt og glialt linjemarkører som glial fibrillary acidic protein (GFAP), nestin og vimentin, noe som støtter astrocyttisk tumoropprinnelse. Molekylær karakterisering innenfor HROG-plattformen inkluderer vurdering av klinisk relevante biomarkører som MGMT-promotor-metyleringsstatus, EGFR-amplifikasjon og mutasjonsprofilering av gener, inkludert TP53, IDH1/2, KRAS og BRAF, noe som bekrefter bevaring av tumorassosierte genomiske endringer i tidlige passasjekulturer.

HROG06 T0 M2 har blitt brukt til in vitro-evaluering av terapeutiske responser på standardbehandlinger for glioblastom, inkludert alkylende kjemoterapeutiske midler, samt målrettede inhibitorer. Sammenlignende analyser innenfor HROG-samlingen indikerer stabil morfologi, reproducerbar vekstkinetikk og konsistente legemiddelfølsomhetsprofiler i tidlige passasjer, noe som støtter dens egnethet som en translasjonell forskningsmodell. Som en pasientavledet GBM-cellelinje med lav passasje, gir HROG06 T0 M2 en klinisk relevant plattform for å studere glioblastombiologi, tumorheterogenitet og mekanismer for behandlingsresistens.

Organism Menneskelig**Tissue** Hjerne**Disease** Glioblastom**Kjennetegn****Ethnicity** Kaukasisk**Growth properties** Vedhengende**Regulatoriske data****Citation** HROG06 T0 M2 (Cytion-katalognummer 300883)**Biosafety level** 1

HROG06 T0 M2 Celler | 300883**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Depositor** M. Linnebacher**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HROG06 T0 M2 Celler | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HROG06 T0 M2 Celler | 300883

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.