

HROG33 T0 M1 Celler | 300878**Generell informasjon****Description**

HROG33 T0 M1 er en primær humant glioblastoma multiforme (GBM) cellelinje etablert fra ferskt resekert tumorvev fra en voksen kvinnelig pasient med WHO grad IV glioblastoma lokalisert i venstre occipitotemporal region. Betegnelsen «T0» refererer til den primære svulsten ved første diagnose, og «M1» angir den tilsvarende in vitro-modellen avledet fra dette prøven. Cellelinjen ble generert som en del av et systematisk arbeid for å etablere GBM-kulturer med svært lav passasje fra både ferskt og vitalt kryokonservert tumormateriale, med sikte på å bevare pasientspesifikke molekulære og funksjonelle egenskaper.

HROG33 T0 M1 viser vedheftende vekst med en fibroblastlignende morfologi som er typisk for primære GBM-kulturer. Cellene danner et monolag og viser konsistent proliferativ kapasitet in vitro. I den komparative etableringsstudien viste parvise kulturer avledet fra ferskt og kryokonservert tumorvev ingen signifikante forskjeller i morfologi, vekstkinetikk eller respons på legemidler. Immunofenotypisk karakterisering av representative HROG-cellelinjer viste uttrykk for markører assosiert med nevralt linje, inkludert glial fibrillary acidic protein (GFAP), nestin og vimentin, i samsvar med en gliomavledet fenotype. Molekulære analyser utført på tvers av HROG-serien inkluderte vurdering av MGMT-promotormetylering, EGFR-amplifikasjon og mutasjonsstatus for TP53, IDH1/2, KRAS og BRAF, noe som støtter bevaring av tumorspesifikke genomiske egenskaper i etablerte kulturer.

Funksjonelt har HROG-avlede celler blitt evaluert for følsomhet overfor standardbehandling og forsøksmidler som brukes i GBM-terapi, inkludert temozolomid, BCNU (karmustin), vinkristin og imatinib. Legemiddelresponsprofilene til matchede cellelinjepar indikerte stabil og reproducerbar farmakologisk atferd etter vekskryopreservering. Som en primær GBM-modell med ultralav passasje gir HROG33 T0 M1 et klinisk relevant in vitro-system for å undersøke glioblastombiologi, prediksjon av terapeutisk respons og pasientspesifikk tumorheterogenitet, samtidig som artefakter assosiert med langvarig kontinuerlig tilpasning av cellelinjer minimeres.

Organism Menneskelig**Tissue** Hjerne**Disease** Glioblastom**Kjennetegn****Age** 46 år**Gender** Kvinne**Ethnicity** Kaukasisk**Growth properties** Vedhengende

HROG33 T0 M1 Celler | 300878**Regulatoriske data**

Citation	HROG33 T0 M1 (Cytion-katalognummer 300878)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U48
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 NaHCO ₃ (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.

HROG33 T0 M1 Celler | 300878

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.

HROG33 T0 M1 Celler | 300878

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.