

**Komórki HROG12 T0 M1 | 300882****Informacje ogólne****Description**

HROG12 T0 M1 to pierwotna ludzka linia komórkowa glejaka wielopostaciowego (GBM) utworzona ze świeżo wyciętej tkanki nowotworowej dorosłego pacjenta, u którego zdiagnozowano glejaka IV stopnia według klasyfikacji WHO. Oznaczenie „T0” wskazuje, że próbka została pobrana podczas pierwszej interwencji chirurgicznej, natomiast „M1” odnosi się do odpowiedniego modelu in vitro pochodzącego z tego pierwotnego guza. Linia komórkowa została wygenerowana w ramach platformy modelowej HROG (Hansestadt Rostock Glioma), która koncentruje się na tworzeniu kultur glejaków o bardzo niskiej liczbie pasażów, zachowujących specyficzne dla pacjenta cechy molekularne i biologiczne.

HROG12 T0 M1 wykazuje przyleganie w standardowych warunkach hodowli i morfologię podobną do fibroblastów, typową dla pierwotnych kultur GBM. Charakterystyka immunofenotypowa linii komórkowych pochodzących z HROG wykazuje ekspresję markerów linii komórkowej neuronów i gleju, takich jak kwaśne białko włókniste gleju (GFAP), nestyna i wimentyna, co potwierdza astrocytowe pochodzenie nowotworu. W ramach kolekcji HROG profilowanie molekularne obejmuje ocenę klinicznie istotnych biomarkerów, takich jak metylacja promotora MGMT, status amplifikacji EGFR oraz analizę mutacji genów, w tym TP53, IDH1/2, KRAS i BRAF, potwierdzając zachowanie zmian genomowych związanych z nowotworem w kulturach o wczesnym pasażowaniu.

HROG12 T0 M1 został wykorzystany do oceny in vitro odpowiedzi terapeutycznej na standardowe leczenie glejaka wielopostaciowego, w tym środki alkilujące, a także badane terapie celowane. Analizy porównawcze modeli HROG wskazują na stabilną morfologię, powtarzalną kinetykę wzrostu i spójne profile wrażliwości na leki we wczesnych pasażach. Jako model glejaka wielopostaciowego pochodzący od pacjenta, o niskiej liczbie pasażów, HROG12 T0 M1 stanowi klinicznie istotną platformę do badania biologii nowotworu, heterogenności molekularnej i mechanizmów oporności terapeutycznej w glejakach wysokiego stopnia złośliwości.

**Organism** Człowiek**Tissue** Mózg**Disease** Glejak wielopostaciowy**Charakterystyka****Ethnicity** Kaukaski**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HROG12 T0 M1 (numer katalogowy Cytion 300882)**Biosafety level** 1

**Komórki HROG12 T0 M1 | 300882****NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_B7FR**Depositor** M. Linnebacher**Dane biomolekularne****Obsługa****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usun starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Komórki HROG12 T0 M1 | 300882

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki HROG12 T0 M1 | 300882

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Przechowywanie w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.