

HROG06 T0 M2 Células | 300883**Informações gerais****Description**

HROG06 T0 M2 é uma linha celular primária de glioblastoma multiforme (GBM) humano estabelecida a partir de tecido tumoral recém-resssecado de um paciente adulto diagnosticado com glioblastoma grau IV da OMS. A designação «T0» indica que a amostra do tumor foi obtida na intervenção cirúrgica inicial, enquanto «M2» se refere ao segundo modelo in vitro gerado independentemente, derivado do mesmo tumor primário. A linha celular foi desenvolvida dentro da plataforma HROG (Hansestadt Rostock Glioma), que se concentra na geração de culturas de glioma de passagem ultrabaixa que preservam as características biológicas e moleculares do tumor original do paciente.

O HROG06 T0 M2 cresce de forma aderente em condições de cultura padronizadas e exibe uma morfologia fusiforme semelhante à dos fibroblastos, típica das culturas primárias de GBM. Análises imunofenotípicas em toda a série HROG demonstram a expressão de marcadores da linhagem neural e glial, tais como proteína ácida fibrilar glial (GFAP), nestina e vimentina, apoiando a origem astrocítica do tumor. A caracterização molecular na plataforma HROG inclui a avaliação de biomarcadores clinicamente relevantes, como o estado de metilação do promotor MGMT, amplificação do EGFR e perfil mutacional de genes, incluindo TP53, IDH1/2, KRAS e BRAF, confirmando a preservação das alterações genômicas associadas ao tumor em culturas de passagem inicial.

O HROG06 T0 M2 tem sido utilizado para avaliação in vitro de respostas terapêuticas a tratamentos padrão para glioblastoma, incluindo agentes quimioterápicos alquilantes, bem como inibidores direcionados. Análises comparativas dentro da coleção HROG indicam morfologia estável, cinética de crescimento reprodutível e perfis consistentes de sensibilidade a medicamentos em passagens iniciais, apoiando a sua adequação como modelo de pesquisa translacional. Como uma linha celular GBM de baixa passagem derivada de paciente, o HROG06 T0 M2 fornece uma plataforma clinicamente relevante para o estudo da biologia do glioblastoma, heterogeneidade tumoral e mecanismos de resistência ao tratamento.

Organism Humano**Tissue** Cérebro**Disease** Glioblastoma**Caraterísticas****Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** HROG06 T0 M2 (número de catálogo Cytion 300883)**Biosafety level** 1

HROG06 T0 M2 Células | 300883**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Dados biomoleculares****Manuseamento****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

HROG06 T0 M2 Células | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

HROG06 T0 M2 Células | 300883

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.