

Células HROG33 T0 M1 | 300878**Informações gerais****Description**

HROG33 T0 M1 é uma linha celular primária de glioblastoma multiforme (GBM) humano estabelecida a partir de tecido tumoral recém-resssecado de uma paciente adulta com glioblastoma grau IV da OMS localizado na região occipitotemporal esquerda. A designação «T0» refere-se ao tumor primário no diagnóstico inicial e «M1» denota o modelo in vitro correspondente derivado desta amostra. A linha celular foi gerada como parte de um esforço sistemático para estabelecer culturas de GBM de passagem ultrabaixa a partir de material tumoral fresco e criopreservado, com o objetivo de preservar as características moleculares e funcionais específicas do paciente.

A HROG33 T0 M1 exibe crescimento aderente com uma morfologia semelhante à dos fibroblastos, típica das culturas primárias de GBM. As células formam uma monocamada e apresentam capacidade proliferativa consistente in vitro. No estudo comparativo de estabelecimento, culturas emparelhadas derivadas de tecido tumoral fresco e criopreservado não mostraram diferenças significativas na morfologia, cinética de crescimento ou resposta a medicamentos. A caracterização imunofenotípica de linhas celulares HROG representativas demonstrou a expressão de marcadores associados à linhagem neural, incluindo proteína ácida fibrilar glial (GFAP), nestina e vimentina, consistente com um fenótipo derivado de glioma. As análises moleculares realizadas em toda a série HROG incluíram a avaliação da metilação do promotor MGMT, amplificação do EGFR e estado mutacional de TP53, IDH1/2, KRAS e BRAF, apoiando a retenção de características genómicas específicas do tumor em culturas estabelecidas.

Funcionalmente, as linhas celulares derivadas de HROG foram avaliadas quanto à sensibilidade aos agentes padrão de tratamento e experimentais usados na terapia de GBM, incluindo temozolomida, BCNU (carmustina), vincristina e imatinibe. Os perfis de resposta aos medicamentos de pares de linhas celulares correspondentes indicaram um comportamento farmacológico estável e reproduzível após a criopreservação do tecido. Como um modelo primário de GBM de passagem ultrabaixa, o HROG33 T0 M1 fornece um sistema in vitro clinicamente relevante para investigar a biologia do glioblastoma, a previsão da resposta terapêutica e a heterogeneidade tumoral específica do paciente, minimizando os artefactos associados à adaptação contínua de linhas celulares a longo prazo.

Organism Humano**Tissue** Cérebro**Disease** Glioblastoma**Caraterísticas****Age** 46 anos**Gender** Feminino**Ethnicity** Caucasiano**Growth properties** Aderente

Células HROG33 T0 M1 | 300878**Dados regulamentares**

Citation	HROG33 T0 M1 (número de catálogo Cytion 300878)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U48

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 NaHCO ₃ (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.

Células HROG33 T0 M1 | 300878

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.

Células HROG33 T0 M1 | 300878

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.