

## Celule HROG33 T0 M1 | 300878

## Informații generale

## Description

HROG33 T0 M1 este o linie celulară primară de glioblastom multiforme (GBM) uman, creată din țesut tumoral proaspăt rezecat de la o pacientă adultă cu glioblastom de gradul IV conform clasificării OMS, localizat în regiunea occipito-temporală stângă. Denumirea „T0” se referă la tumora primară la momentul diagnosticului inițial, iar „M1” denotă modelul in vitro corespunzător derivat din această probă. Linia celulară a fost generată ca parte a unui efort sistematic de a stabili culturi GBM cu pasaj ultra-scăzut atât din material tumoral proaspăt, cât și din material tumoral crioconservat, cu scopul de a păstra caracteristicile moleculare și funcționale specifice pacientului.

HROG33 T0 M1 prezintă o creștere aderentă, cu o morfologie similară fibroblastelor, tipică culturilor GBM primare. Celulele formează un strat unic și prezintă o capacitate de proliferare consistentă in vitro. În studiul comparativ de stabilire, culturile pereche derivate din țesut tumoral proaspăt și crioconservat nu au prezentat diferențe semnificative în ceea ce privește morfologia, cinetica de creștere sau răspunsul la medicamente. Caracterizarea imunofenotipică a liniilor celulare HROG reprezentative a demonstrat expresia markerilor asociați liniei neuronale, inclusiv proteina acidă fibrilară glială (GFAP), nestina și vimentina, în concordanță cu un fenotip derivat din gliom. Analizele moleculare efectuate pe seria HROG au inclus evaluarea metilării promotorului MGMT, amplificarea EGFR și starea mutațională a TP53, IDH1/2, KRAS și BRAF, susținând păstrarea caracteristicilor genomice specifice tumorii în culturile stabilite.

Din punct de vedere funcțional, liniile celulare derivate din HROG au fost evaluate pentru sensibilitatea la agenții standard de îngrijire și de cercetare utilizați în terapia GBM, inclusiv temozolomida, BCNU (carmustina), vincristina și imatinib. Profilurile de răspuns la medicamente ale perechilor de linii celulare potrivite au indicat un comportament farmacologic stabil și reproductibil după crioconservarea țesutului. Ca model GBM primar cu pasaj ultra-scăzut, HROG33 T0 M1 oferă un sistem in vitro relevant din punct de vedere clinic pentru investigarea biologiei glioblastomului, predicția răspunsului terapeutic și heterogenitatea tumorii specifice pacientului, minimizând în același timp artefactele asociate cu adaptarea continuă pe termen lung a liniei celulare.

**Organism** Om

**Tissue** Creierul

**Disease** Glioblastom

## Caracteristici

**Age** 46 de ani

**Gender** Femei

**Ethnicity** Caucazian

**Growth properties** Aderent

**Celule HROG33 T0 M1 | 300878****Date de reglementare**

<b>Citation</b>	HROG33 T0 M1 (număr de catalog Cytion 300878)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U48

**Date biomoleculare****Manipulare**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucoză, w: 2,5 mM L-Glutamină, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Piruvat de sodiu, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (număr articol Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Suplimentați mediul cu 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
<b>Freeze medium</b>	Ca mediu de crioconservare, folosim 50% mediu bazal + 40% FBS + 10% DMSO sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

## Celule HROG33 T0 M1 | 300878

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

### Incubation Atmosphere

37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , atmosferă umidificată.

### Flask Coating

Pentru atașare optimă și viabilitate după decongelare, vă recomandăm să utilizați **flacoane sau plăci acoperite cu colagen**.

### Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

## Celule HROG33 T0 M1 | 300878

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.