

**HROG33 T0 M1 Celler | 300878****Allmän information****Description**

HROG33 T0 M1 är en primär human glioblastoma multiforme (GBM)-cellinje som etablerats från nyligen resekterad tumörvävnad från en vuxen kvinnlig patient med WHO-grad IV glioblastom lokaliserat i vänster occipitotemporal region. Beteckningen "T0" avser den primära tumören vid den initiala diagnosen, och "M1" betecknar motsvarande in vitro-modell som härrör från detta prov. Cellinjen genererades som en del av ett systematiskt arbete för att etablera GBM-kulturer med extremt låg passage från både färskt och vitalt kryokonservat tumörmaterial, med målet att bevara patientspecifika molekylära och funktionella egenskaper.

HROG33 T0 M1 uppvisar adherent tillväxt med en fibroblastliknande morfologi som är typisk för primära GBM-kulturer. Cellerna bildar ett monolager och uppvisar en jämn proliferativ kapacitet in vitro. I den jämförande etableringsstudien visade parade odlingar härrörande från färskt och kryokonservat tumörvävnad inga signifikanta skillnader i morfologi, tillväxtkinetik eller läkemedelsrespons. Immunofenotypisk karakterisering av representativa HROG-cellinjer visade uttryck av markörer associerade med neural linje, inklusive glialfibrillära sura proteiner (GFAP), nestin och vimentin, vilket överensstämmer med en gliomhärledd fenotyp. Molekylära analyser som utfördes över HROG-serien inkluderade bedömning av MGMT-promotormetylering, EGFR-amplifiering och mutationsstatus för TP53, IDH1/2, KRAS och BRAF, vilket stödjer bevarandet av tumorspecifika genomiska egenskaper i etablerade odlingar.

Funktionellt har HROG-härledda cellinjer utvärderats med avseende på känslighet för standardbehandling och prövningsläkemedel som används vid GBM-behandling, inklusive temozolomid, BCNU (karmustin), vinkristin och imatinib. Läkemedelsresponsprofilerna för matchade cellinje-par indikerade stabilt och reproducerbart farmakologiskt beteende efter vävnadsfrysning. Som en primär GBM-modell med extremt låg passage ger HROG33 T0 M1 ett kliniskt relevant in vitro-system för att undersöka glioblastombiologi, förutsäga terapeutiskt svar och patientspecifik tumörheterogenitet, samtidigt som artefakter associerade med långvarig kontinuerlig cellinjeanpassning minimeras.

**Organism** Människan**Tissue** Hjärna**Disease** Glioblastom**Egenskaper****Age** 46 år**Gender** Kvinna**Ethnicity** Kaukasisk**Growth properties** Följsam

**HROG33 T0 M1 Celler | 300878****Lagstadgade uppgifter**

<b>Citation</b>	HROG33 T0 M1 (Cytion katalognummer 300878)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U48
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

**Biomolekylära data****Hantering**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glukos, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820400a)
<b>Supplements</b>	Komplettera mediet med 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Subculturing</b>	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
<b>Freeze medium</b>	Som kryokonservationsmedium använder vi 50% basalt medium + 40% FBS + 10% DMSO, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

## HROG33 T0 M1 Celler | 300878

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300\text{ x g}$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

## HROG33 T0 M1 Celler | 300878

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.