

Células HROG33 T0 M1 | 300878**Información general****Description**

HROG33 T0 M1 es una línea celular de glioblastoma multiforme (GBM) humano primario establecida a partir de tejido tumoral recién extirpado de una paciente adulta con glioblastoma de grado IV según la clasificación de la OMS, localizado en la región occipitotemporal izquierda. La designación «T0» se refiere al tumor primario en el momento del diagnóstico inicial, y «M1» denota el modelo in vitro correspondiente derivado de esta muestra. La línea celular se generó como parte de un esfuerzo sistemático por establecer cultivos de GBM de pasajes ultrabajos a partir de material tumoral tanto fresco como criopreservado de manera vital, con el objetivo de preservar las características moleculares y funcionales específicas de cada paciente.

HROG33 T0 M1 presenta un crecimiento adherente con una morfología similar a la de los fibroblastos, típica de los cultivos primarios de GBM. Las células forman una monocapa y muestran una capacidad proliferativa constante in vitro. En el estudio comparativo de establecimiento, los cultivos emparejados derivados de tejido tumoral fresco y criopreservado no mostraron diferencias significativas en cuanto a morfología, cinética de crecimiento o respuesta a los fármacos. La caracterización inmunofenotípica de líneas celulares HROG representativas demostró la expresión de marcadores asociados al linaje neural, incluyendo la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), la nestina y la vimentina, lo cual concuerda con un fenotipo derivado del glioma. Los análisis moleculares realizados en toda la serie de HROG incluyeron la evaluación de la metilación del promotor de MGMT, la amplificación de EGFR y el estado mutacional de TP53, IDH1/2, KRAS y BRAF, lo que respalda la retención de características genómicas específicas del tumor en los cultivos establecidos.

Desde el punto de vista funcional, se ha evaluado la sensibilidad de las líneas celulares derivadas de HROG a los tratamientos de referencia y a los agentes en fase de investigación utilizados en la terapia del GBM, incluyendo temozolomida, BCNU (carmustina), vincristina e imatinib. Los perfiles de respuesta a los fármacos de los pares de líneas celulares emparejadas indicaron un comportamiento farmacológico estable y reproducible tras la criopreservación del tejido. Como modelo de GBM primario de muy bajo número de pasajes, HROG33 T0 M1 ofrece un sistema in vitro clínicamente relevante para investigar la biología del glioblastoma, predecir la respuesta terapéutica y estudiar la heterogeneidad tumoral específica de cada paciente, al tiempo que minimiza los artefactos asociados con la adaptación continua a largo plazo de las líneas celulares.

Organism Humano**Tissue** Cerebro**Disease** Glioblastoma**Características****Age** 46 años**Gender** Mujer**Ethnicity** caucásico

Células HROG33 T0 M1 | 300878**Growth properties**

Adherente

Datos normativos**Citation** HROG33 T0 M1 (número de catálogo de Cytion 300878)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4U48**Datos biomoleculares****Manejo****Culture Medium** DMEM:F12 de Ham (1:1), p/v: 3,1 g/L de glucosa, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, p: 0,5 mM de piruvato de sodio, p: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artículo de Cytion 820400a)**Supplements** Añade al medio un 10 % de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retira el medio usado de las células adheridas y lávalas con PBS sin calcio ni magnesio. Para los frascos T25, usa de 3 a 5 ml de PBS, y para los frascos T75, usa de 5 a 10 ml. Luego, cubra las células por completo con Accutase, utilizando de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. Deje que las células se incuben a temperatura ambiente durante 8 a 10 minutos para desprenderse. Después de la incubación, mezcla suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas; luego, centrifuga a 300xg durante 3 minutos. Deseche el sobrenadante, resuspenda las células en medio fresco y transfíralas a frascos nuevos que ya contengan medio fresco.**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos un 50 % de medio basal + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células HROG33 T0 M1 | 300878**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37 °C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % de CO₂, atmósfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente -78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

**Storage
Conditions**

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre -150 y -196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a -80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Células HROG33 T0 M1 | 300878

Control de calidad y análisis molecular

Sterility

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.

Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.