

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

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

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

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

Organism Humano**Tissue** Cérebro**Disease** Glioblastoma**Características****Ethnicity** caucasiano**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios****Citation** HROG06 T0 M2 (número de catálogo da Cytion 300883)

Células HROG06 T0 M2 | 300883**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Dados biomoleculares****Manuseio****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo da Cytion 820400a)**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as 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 da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células HROG06 T0 M2 | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células HROG06 T0 M2 | 300883

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.