

Células HROG33 T0 M1 | 300878

Informações gerais

Description

HROG33 T0 M1 é uma linhagem celular primária de glioblastoma multiforme (GBM) humano, estabelecida a partir de tecido tumoral recém-ressecado de uma paciente adulta com glioblastoma de 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 dessa amostra. A linhagem celular foi gerada como parte de um esforço sistemático para estabelecer culturas de GBM com número ultrabaixo de passagens a partir de material tumoral tanto fresco quanto criopreservado de forma vital, com o objetivo de preservar características moleculares e funcionais específicas do paciente.

A HROG33 T0 M1 apresenta crescimento aderente com morfologia semelhante à de fibroblastos, típica de culturas primárias de GBM. As células formam uma monocamada e exibem capacidade proliferativa consistente in vitro. No estudo comparativo de estabelecimento, culturas emparelhadas derivadas de tecido tumoral fresco e criopreservado não apresentaram diferenças significativas na morfologia, cinética de crescimento ou resposta a medicamentos. A caracterização imunofenotípica de linhagens 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 na série HROG incluíram a avaliação da metilação do promotor de MGMT, a amplificação de EGFR e o status mutacional de TP53, IDH1/2, KRAS e BRAF, corroborando a retenção de características genômicas específicas do tumor nas culturas estabelecidas.

Do ponto de vista funcional, as linhagens celulares derivadas de HROG foram avaliadas quanto à sensibilidade a agentes de tratamento padrão e experimentais utilizados na terapia do GBM, incluindo temozolomida, BCNU (carmustina), vincristina e imatinibe. Os perfis de resposta aos medicamentos de pares de linhagens celulares correspondentes indicaram um comportamento farmacológico estável e reproduzível após a criopreservação do tecido. Como um modelo de GBM primário de passagem ultrabaixa, o HROG33 T0 M1 oferece 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 ao mesmo tempo os artefatos associados à adaptação contínua de longo prazo das linhagens celulares.

Organism

Humano

Tissue

Cérebro

Disease

Glioblastoma

Características

Age

46 anos

Gender

Mulher

Ethnicity

caucasiano

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

Aderente

Dados regulatórios**Citation** HROG33 T0 M1 (número de catálogo da Cytion 300878)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4U48**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 HROG33 T0 M1 | 300878**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 HROG33 T0 M1 | 300878

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.