

HROG06 T0 M2 Cellules | 300883**Informations générales****Description**

HROG06 T0 M2 est une lignée cellulaire primaire humaine de glioblastome multiforme (GBM) établie à partir de tissu tumoral fraîchement résecté provenant d'un patient adulte diagnostiqué avec un glioblastome de grade IV selon la classification de l'OMS. La désignation « T0 » indique que l'échantillon tumoral a été prélevé lors de la première intervention chirurgicale, tandis que « M2 » fait référence au deuxième modèle in vitro généré indépendamment à partir de la même tumeur primaire. La lignée cellulaire a été développée au sein de la plateforme HROG (Hansestadt Rostock Glioma), qui se concentre sur la génération de cultures de gliomes à très faible passage qui préservent les caractéristiques biologiques et moléculaires de la tumeur originale du patient.

HROG06 T0 M2 se développe de manière adhérente dans des conditions de culture standardisées et présente une morphologie fusiforme, semblable à celle des fibroblastes, typique des cultures primaires de GBM. Les analyses immunophénotypiques de la série HROG démontrent l'expression de marqueurs de la lignée neurale et gliale tels que la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP), la nestine et la vimentine, ce qui confirme l'origine astrocytaire de la tumeur. La caractérisation moléculaire au sein de la plateforme HROG comprend l'évaluation de biomarqueurs cliniquement pertinents tels que le statut de méthylation du promoteur MGMT, l'amplification de l'EGFR et le profil mutationnel de gènes tels que TP53, IDH1/2, KRAS et BRAF, confirmant la préservation des altérations génomiques associées à la tumeur dans les cultures à passage précoce.

HROG06 T0 M2 a été utilisé pour l'évaluation in vitro des réponses thérapeutiques aux traitements standard du glioblastome, notamment les agents chimiothérapeutiques alkylants et les inhibiteurs ciblés. Les analyses comparatives au sein de la collection HROG indiquent une morphologie stable, une cinétique de croissance reproductible et des profils de sensibilité aux médicaments cohérents dans les premiers passages, ce qui confirme son adéquation en tant que modèle de recherche translationnelle. En tant que lignée cellulaire GBM dérivée de patient et à faible nombre de passages, HROG06 T0 M2 fournit une plateforme cliniquement pertinente pour l'étude de la biologie du glioblastome, de l'hétérogénéité tumorale et des mécanismes de résistance au traitement.

Organism Humain**Tissue** Cerveau**Disease** Glioblastome**Caractéristiques****Ethnicity** Caucasien**Growth properties** Adhérent**Données réglementaires****Citation** HROG06 T0 M2 (numéro de catalogue Cytion 300883)

HROG06 T0 M2 Cellules | 300883**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Depositor** M. Linnebacher**Données biomoléculaires****Manipulation****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820400a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons 50 % de milieu basal + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui contient des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

HROG06 T0 M2 Cellules | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continu de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%_{CO2}, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Pour une fixation et une viabilité optimales après décongélation, nous recommandons d'utiliser des **flacons ou des plaques recouverts de collagène**.

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

HROG06 T0 M2 Cellules | 300883

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.