

**HROG33 T0 M1 Cellules | 300878****Informations générales****Description**

HROG33 T0 M1 est une lignée cellulaire primaire de glioblastome multiforme (GBM) humain établie à partir de tissu tumoral fraîchement résectionné provenant d'une patiente adulte atteinte d'un glioblastome de grade IV selon la classification de l'OMS, situé dans la région occipito-temporale gauche. La désignation « T0 » fait référence à la tumeur primaire au moment du diagnostic initial, et « M1 » désigne le modèle in vitro correspondant dérivé de cet échantillon. La lignée cellulaire a été générée dans le cadre d'un effort systématique visant à établir des cultures de GBM à passage ultra-faible à partir de matériel tumoral frais et cryoconservé de manière vitale, dans le but de préserver les caractéristiques moléculaires et fonctionnelles spécifiques au patient.

HROG33 T0 M1 présente une croissance adhérente avec une morphologie de type fibroblaste typique des cultures de GBM primaires. Les cellules forment une monocouche et affichent une capacité proliférative constante in vitro. Dans l'étude comparative, les cultures appariées dérivées de tissus tumoraux frais et cryoconservés n'ont montré aucune différence significative en termes de morphologie, de cinétique de croissance ou de réactivité aux médicaments. La caractérisation immunophénotypique des lignées cellulaires HROG représentatives a démontré l'expression de marqueurs associés à la lignée neurale, notamment la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP), la nestine et la vimentine, ce qui correspond au phénotype dérivé du gliome. Les analyses moléculaires réalisées sur la série HROG comprenaient l'évaluation de la méthylation du promoteur MGMT, de l'amplification de l'EGFR et du statut mutationnel de TP53, IDH1/2, KRAS et BRAF, confirmant la conservation des caractéristiques génomiques spécifiques à la tumeur dans les cultures établies.

Sur le plan fonctionnel, les lignées cellulaires dérivées de HROG ont été évaluées pour leur sensibilité aux agents standard et expérimentaux utilisés dans le traitement du GBM, notamment le témozolomide, le BCNU (carmustine), la vincristine et l'imatinib. Les profils de réponse aux médicaments des paires de lignées cellulaires appariées ont indiqué un comportement pharmacologique stable et reproductible après cryoconservation des tissus. En tant que modèle primaire de GBM à passage ultra-faible, HROG33 T0 M1 fournit un système in vitro cliniquement pertinent pour étudier la biologie du glioblastome, prédire la réponse thérapeutique et évaluer l'hétérogénéité tumorale spécifique au patient, tout en minimisant les artefacts associés à l'adaptation continue à long terme des lignées cellulaires.

**Organism** Humain

**Tissue** Cerveau

**Disease** Glioblastome

**Caractéristiques**

**Age** 46 ans

**Gender** Femme

**Ethnicity** Caucasien

**HROG33 T0 M1 Cellules | 300878**

**Growth properties** Adhérent

**Données réglementaires**

**Citation** HROG33 T0 M1 (numéro de catalogue Cytion 300878)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_4U48

**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 NaHCO<sub>3</sub> (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.

## HROG33 T0 M1 Cellules | 300878

### 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%<sub>CO2</sub>, 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.

## HROG33 T0 M1 Cellules | 300878

### 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.