

**HROG04 Cellules | 300932****Informations générales**

**Description** Il s'agit d'une lignée cellulaire faisant partie d'une série de lignées cellulaires tumorales établies par le Dr Michael Linnebacher à partir de spécimens de résection primaire du cancer du col de l'utérus depuis 2006.

**Organism** Humain

**Tissue** Cerveau, R, frontal

**Disease** Glioblastome (grade IV)

**Caractéristiques**

**Age** 53 ans

**Gender** Femme

**Ethnicity** Caucasien

**Morphology** Un mélange de cellules de type fibroblaste et de cellules de type épithélial

**Growth properties** Adhérent

**Données réglementaires**

**Citation** HROG04 (numéro de catalogue Cytion 300932)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_4U39

**Depositor** M. Linnebacher

**Données biomoléculaires**

**Antigen expression** HLA-A02 +, CMH classe I - CMH classe II -, Beta-microglobuline +, HLA-E +, HLA-G -, MIC A -, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, nestin +, vimentine +, S-100 +, GBM +, BTSC +

**HROG04 Cellules | 300932**

**Mutational profile** PTENW274L, 9p212.3(CDKN2A) supprimé

**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.

**Split ratio** Un rapport de 1:3 à 1:6 est recommandé

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  cellules/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Tous les 3 à 5 jours

**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.

## HROG04 Cellules | 300932

### 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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

## HROG04 Cellules | 300932

### 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.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 12  
**D13S317:** 12  
**D16S539:** 12  
**D5S818:** 12,13  
**D7S820:** 7,10  
**TH01:** 9.3  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 18  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 30  
**D18S51:** 15,20  
**Penta E:** 12,18  
**Penta D:** 13  
**D8S1179:** 10,13  
**FGA:** 22  
**D1S1656:** 15.3,16  
**D6S1043:** 11,12  
**D2S1338:** 21,23  
**D12S391:** 18.3,19  
**D19S433:** 14,15.2

**HROG04 Cellules | 300932**

**Allèles HLA**

**A\***: '01:01:01, '05:35

**B\***: '08:01:01, '51:01:01

**C\***: '07:01:01, '15:02:01

**DRB1\***: '03:01:01, '11:01:01

**DQA1\***: '05:01:01, '05:05:01

**DQB1\***: '02:01:01, '03:01:01

**DPB1\***: '01:01:01, '04:01:01

**E**: '01:01:01