

Cellules HROG06 T0 M2 | 300883**Renseignements généraux****Description**

HROG06 T0 M2 est une lignée cellulaire de glioblastome multiforme (GBM) humain primaire établie à partir de tissu tumoral fraîchement résectionné chez un patient adulte chez qui un glioblastome de grade IV selon la classification de l'OMS avait été diagnostiqué. 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 de manière indépendante à partir de la même tumeur primaire. La lignée cellulaire a été développée au sein de la plateforme HROG (Hansestadt Rostock Glioma), qui se consacre à la production de cultures de gliomes à très faible nombre de passages préservant les caractéristiques biologiques et moléculaires de la tumeur d'origine du patient.

La lignée HROG06 T0 M2 se développe en adhésion dans des conditions de culture normalisées et présente une morphologie fusiforme de type fibroblastique, typique des cultures primaires de GBM. Les analyses immunophénotypiques menées sur l'ensemble de la série HROG démontrent l'expression de marqueurs des lignées neurales et gliales, tels que la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP), la nestine et la vimentine, ce qui corrobore 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 profilage mutationnel de gènes incluant TP53, IDH1/2, KRAS et BRAF, confirmant la préservation des altérations génomiques associées à la tumeur dans les cultures à passages précoces.

La lignée HROG06 T0 M2 a été utilisée pour l'évaluation in vitro des réponses thérapeutiques aux traitements de référence du glioblastome, y compris les agents chimiothérapeutiques alkylants ainsi que les inhibiteurs ciblés. Des 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 dès les premiers passages, ce qui confirme son adéquation en tant que modèle de recherche translationnelle. En tant que lignée cellulaire de GBM dérivée d'un patient et à faible nombre de passages, HROG06 T0 M2 offre 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** Adepté**Données réglementaires**

Cellules HROG06 T0 M2 | 300883**Citation** HROG06 T0 M2 (numéro de catalogue Cytion 300883)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7FP**Données biomoléculaires****Manipulation****Culture Medium** DMEM : F12 de Ham (1:1), p/v : 3,1 g/L de glucose, p/v : 2,5 mM de L-glutamine, p/v : 15 mM d'HEPES, 0,5 mM de pyruvate de sodium, 1,2 g/L de NaHCO₃ (référence Cytion 820400a)**Supplements** Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Retirez l'ancien milieu des cellules adhérentes et lavez-les avec du PBS sans calcium ni magnésium. Pour les flacons T25, utilisez 3 à 5 ml de PBS, et pour les flacons T75, utilisez 5 à 10 ml. Ensuite, recouvrez complètement les cellules d'Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laissez les cellules incuber à température ambiante pendant 8 à 10 minutes afin de les détacher. Après l'incubation, mélangez délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifugez à 300 x g pendant 3 minutes. Éliminez le surnageant, remettez les cellules en suspension dans du milieu frais, puis transférez-les dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Freeze medium** Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un mélange composé de 50 % de milieu de base + 40 % de FBS + 10 % de DMSO, ou du CM-1 (numéro de catalogue Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés afin d'améliorer la récupération et de réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules HROG06 T0 M2 | 300883

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

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

Cellules HROG06 T0 M2 | 300883

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

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

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.