

Cellules HROG33 T0 M1 | 300878

Renseignements généraux

Description

HROG33 T0 M1 est une lignée cellulaire de glioblastome multiforme (GBM) humain primaire, établie à partir de tissu tumoral fraîchement réséqué chez 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, tandis que « M1 » désigne le modèle in vitro correspondant dérivé de ce prélèvement. La lignée cellulaire a été générée dans le cadre d'un effort systématique visant à établir des cultures de GBM à très faible nombre de passages à partir de matériel tumoral à la fois frais et cryoconservé de manière vitale, dans le but de préserver les caractéristiques moléculaires et fonctionnelles spécifiques à chaque patient.

La lignée HROG33 T0 M1 présente une croissance adhérente avec une morphologie de type fibroblastique typique des cultures primaires de GBM. Les cellules forment une monocouche et font preuve d'une capacité proliférative constante in vitro. Dans l'étude comparative d'établissement, 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 réponse aux médicaments. La caractérisation immunophénotypique de lignées cellulaires HROG représentatives a mis en évidence l'expression de marqueurs associés à la lignée neurale, notamment la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP), la nestine et la vimentine, ce qui correspond à un phénotype dérivé d'un gliome. Les analyses moléculaires réalisées sur l'ensemble de la série HROG comprenaient l'évaluation de la méthylation du promoteur MGMT, de l'amplification de l'EGFR et du statut mutationnel des gènes TP53, IDH1/2, KRAS et BRAF, ce qui confirme la conservation des caractéristiques génomiques spécifiques à la tumeur dans les cultures établies.

Sur le plan fonctionnel, les lignées cellulaires dérivées des HROG ont été évaluées quant à leur sensibilité aux traitements de référence et aux agents expérimentaux utilisés dans le traitement du GBM, notamment la témozolomide, le BCNU (carmustine), la vincristine et l'imatinib. Les profils de réponse aux médicaments des paires de lignées cellulaires appariées ont révélé un comportement pharmacologique stable et reproductible après la cryoconservation des tissus. En tant que modèle de GBM primaire à très faible nombre de passages, HROG33 T0 M1 offre un système in vitro cliniquement pertinent pour l'étude de la biologie du glioblastome, la prédiction de la réponse thérapeutique et 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

Cellules HROG33 T0 M1 | 300878

Growth properties

Adepté

Données réglementaires

Citation HROG33 T0 M1 (numéro de catalogue Cytion 300878)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_4U48

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 HROG33 T0 M1 | 300878

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 HROG33 T0 M1 | 300878

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.