

## HROG05 Buňky | 300940

## Obecné informace

<b>Description</b>	Jedná se o jednu buněčnou linii ze série nádorových buněčných linií, které od roku 2006 vytvořil Dr. Michael Linnebacher z primárních resektátů CRC.
<b>Organism</b>	Člověk
<b>Tissue</b>	Mozek, L, temporální
<b>Disease</b>	Relapsovaný glioblastom (stupeň IV)

## Charakteristika

<b>Age</b>	60 let
<b>Gender</b>	Ženy
<b>Ethnicity</b>	Kavkazský
<b>Morphology</b>	Směs buněk podobných fibroblastům a epiteliálním buňkám
<b>Growth properties</b>	Adherentní

## Regulační údaje

<b>Citation</b>	HROG05 (katalogové číslo Cytion 300940)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U40
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

## Biomolekulární data

<b>Antigen expression</b>	HLA-A02+, MHC třídy I - +MHC třídy II -, ICAM-1 + Beta-mikroglobulin +, Beta-2-M+, HLA-E+, HLA-G nízká, , MIC A nízká, MIC-B -, GFAP+, nestin +, vimentin +, S-100+, GBM+, BTSC+
---------------------------	--

**HROG05 Buňky | 300940**

**Mutational profile** IDH 1 a 2 wt, TP53wt, K-Ras G12D, B-RAFwt, 4q12(PDGFR) amplifikovaný, PTEN P169S/del 212-229

**Zpracování**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (číslo výrobku Cytion 820400a)

**Supplements** Doplňte médium o 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 44 až 48 hodin

**Subculturing** Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

**Split ratio** Doporučuje se poměr 1:3 až 1:6

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

**Fluid renewal** Každých 3 až 5 dní

**Freeze medium** Jako kryokonzervační médium používáme 50% základní médium + 40% FBS + 10% DMSO nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu vyvolaného kryo.

## HROG05 Buňky | 300940

### Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , zvlhčená atmosféra.

### Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

### Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

## HROG05 Buňky | 300940

### Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

### Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

## Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

### Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

### Profil STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 11,12  
**D16S539:** 11,12  
**D5S818:** 10,11  
**D7S820:** 7,11  
**TH01:** 6,7  
**TPOX:** 8,11  
**vWA:** 18,19  
**D3S1358:** 15,16  
**D21S11:** 30,31.2  
**D18S51:** 14,16  
**Penta E:** 12,16  
**Penta D:** 8,13  
**D8S1179:** 13  
**FGA:** 20,22  
**D1S1656:** 14,15.3  
**D6S1043:** 12,19  
**D2S1338:** 17,25  
**D12S391:** 23  
**D19S433:** 13,14