

Buňky HROG15 | 300937

Obecné informace

Description	Jedná se o jednu buněčnou linii ze série nádorových buněčných linií, které od roku 2006 vytvořil Dr. Michael Linnebacher z primárních resekátů CRC.
Organism	Člověk
Tissue	Mozek, R, temenní
Disease	Glioblastom (stupeň IV)

Charakteristika

Age	56 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Směs buněk podobných fibroblastům a epitelialním buňkám
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	HROG15 (katalogové číslo Cytion 300937)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_LD58
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekulární data

Antigen expression	HLA-A02 +, beta-mikroglobulin + HLA-E +, HLA-G -, , MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +,GFAP+ , nestin +, vimentin +, S-100+, GBM+, BTSC+
---------------------------	--

Buňky HROG15 | 300937

Mutational profile TP53 wR273C, PTENS170N , 17q11.2(NF) vymazán,

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 NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)

Supplements Doplňte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. 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 1×10^4 buněk/cm²

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.

Buňky HROG15 | 300937**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 odstřeďte 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 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**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.

**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.

Buňky HROG15 | 300937**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,y

CSF1PO: 10,12

D13S317: 11

D16S539: 13

D5S818: 9,12

D7S820: 7,8

TH01: 6

TPOX: 9

vWA: 14,17

D3S1358: 15,17

D21S11: 29,32.2

D18S51: 16

Penta E: 9,16

Penta D: 12

D8S1179: 15,16

FGA: 21

D1S1656: 17,17.3

D6S1043: 12,14

D2S1338: 19,25

D12S391: 22,23

D19S433: 12

Alely HLA

A*: '02:01:01, '03:01:01

B*: '15:01:01, '35:03:01

C*: '03:03:01, '04:01:01

DRB1*: '03:01:01, '13:01:01

DQA1*: '01:03:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '06:03:01

DPB1*: '01:01:01, '02:01:02

E: '01:03:01, '01:03:02