

HROG06 Celler | 300933

Generel information

Description	Dette er en cellelinje i en serie af tumorcellelinjer, som er blevet etableret af PD Dr. Michael Linnebacher fra primære CRC-resektionsprøver siden 2006.
Organism	Menneske
Tissue	Hjerne, L, frontal
Disease	Glioblastom (grad IV)

Karakteristika

Age	53 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	En blanding af fibroblast-lignende og epitel-lignende celler
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	HROG06 (Cytion katalognummer 300933)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U41

Biomolekylære data

Antigen expression	HLA-A02 +, MHC klasse I -+MHC klasse II +, Beta-mikroglobulin +, HLA-E +, HLA-G +, , MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, nestin +, vimentin +, S-100 +, GBM +, BTSC +
Mutational profile	IDH 1 & 2 wt, TP53R273H, R306*, 4q12(PDGFRA) amplificeret, K-Ras wt, B-RAFwt, PTEN(+1 ved 126)

HROG06 Celler | 300933

Håndtering

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	57 til 59 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Seeding density	1×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	Hver 3. til 5. dag
Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende midler og metaboliske stabilisatorer for at øge gendannelsen og reducere kryo-induceret stress.

HROG06 Celler | 300933

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HROG06 Celler | 300933

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

HLA-alleler

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

B*: '08:01:01, '35:01:01

C*: '04:01:01, '07:01:01

DRB1*: '01:01:01, '13:02:01

DQA1*: '01:01:01, '01:02:01

DQB1*: '05:01:01, '06:04:01

DPB1*: '03:01:01, '04:02:01

E: '01:01, '01:06