

**Células HROG02 | 300931****Información general**

**Description** Se trata de una línea celular de una serie de líneas celulares tumorales creadas por el Dr. Michael Linnebacher a partir de muestras de resecciones primarias de CCR desde 2006.

**Organism** Humano

**Tissue** Cerebro, R, parietooccipital

**Disease** Glioblastoma (grado IV)

**Características**

**Age** 68 años

**Gender** Hombre

**Ethnicity** Caucásico

**Morphology** Mezcla de células similares a fibroblastos y células similares a epitelios

**Growth properties** Adherente

**Datos reglamentarios**

**Citation** HROG02 (número de catálogo 300931 de Cytion)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_4U38

**Depositor** M. Linnebacher

**Datos biomoleculares**

**Antigen expression** HLA-A02+, ICAM-1 + Beta-microglobulina +, HLA-E+, HLA-G -, MIC A +, MIC-B -, GFAP+, nestina +, vimentina +, S-100+, GBM+, BTSC+

**Células HROG02 | 300931**

**Mutational profile** IDH 1 y 2 wt, TP53R248Q, 4q12(PDGFR) amplificado, K-Ras wt, B-RAFwt, PTEN-

**Manejo de**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L de glucosa, w: 2,5 mM de L-glutamina, w: 15 mM de HEPES, w: 0,5 mM de piruvato sódico, w: 1,2 g/L de NaHCO<sub>3</sub> (número de artículo de Cytion 820400a)

**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** de 36 a 54 horas

**Subculturing** Retire el medio antiguo de las células adheridas y lávelas con PBS que carezca de calcio y magnesio. Para matraces T25, utilice 3-5 ml de PBS, y para matraces T75, utilice 5-10 ml. A continuación, cubra completamente las células con Accutase, utilizando 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. Deje incubar las células a temperatura ambiente durante 8-10 minutos para desprenderlas. Tras la incubación, mezclar suavemente las células con 10 ml de medio para resuspenderlas y, a continuación, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Desechar el sobrenadante, resuspender las células en medio fresco y transferirlas a nuevos matraces que ya contengan medio fresco.

**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:3 a 1:6

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

**Fluid renewal** Cada 3 a 5 días

**Freeze medium** Como medio de criopreservación, utilizamos 50% de medio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

## Células HROG02 | 300931

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Para una fijación y viabilidad óptimas tras la descongelación, recomendamos utilizar **matraces o placas recubiertos de colágeno**.

### Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

## Células HROG02 | 300931

### Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

### Alelos HLA

**A\***: '01:01, '02:01  
**B\***: '08:01, '13:02  
**C\***: '06:02, '07:01  
**DRB1\***: '03:01, '07:01  
**DRB4\***: 0,04375  
**DQA1\***: '02:01, '05:01  
**DQB1\***: '02:01, '02:02  
**DPA1\***: 0,04375  
**DPB1\***: '04:01