

## HROG06 rakud | 300933

## Üldine teave

<b>Description</b>	Tegemist on ühe rakuliiniga kasvajakude seeriast, mille PD Dr. Michael Linnebacher on alates 2006. aastast loonud primaarse CRC reseksiooniproovidest.
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Aju, L, frontaalne
<b>Disease</b>	Glioblastoom (IV aste)

## Omadused

<b>Age</b>	53 aastat
<b>Gender</b>	Mees
<b>Ethnicity</b>	Kaukaasia
<b>Morphology</b>	Fibroblastilaadsete ja epiteelilaadsete rakkude segu
<b>Growth properties</b>	Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	HROG06 (Cytioni katalooginumbr 300933)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U41

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Antigen expression</b>	HLA-A02 +, MHC klass I -+MHC klass II - +, beetamikroglobuliin +, HLA-E +, HLA-G +, , MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, nestiin +, vimentiin +, S-100 +, GBM +, BTSC +
<b>Mutational profile</b>	IDH 1 & 2 wt, TP53R273H, R306*, 4q12(PDGFRA) amplifitseeritud, K-Ras wt, B-RAFwt, PTEN(+1 at 126)

## HROG06 rakud | 300933

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820400a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS-ga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	57 kuni 59 tundi
<b>Subculturing</b>	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Iga 3 kuni 5 päeva tagant
<b>Freeze medium</b>	Krüokonserveerimissöötmena kasutame 50% põhikeskkonda + 40% FBS + 10% DMSO ehk CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.

## HROG06 rakud | 300933

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle  $37^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## HROG06 rakud | 300933

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**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