

## HROG15-solut | 300937

## Yleisiä tietoja

|                    |   |
|--------------------|---|
| <b>Description</b> | Tämä on yksi solulinja kasvainsolulinjojen sarjassa, jonka PD Dr. Michael Linnebacher on perustanut primaarisen CRC:n resektionäytteistä vuodesta 2006 lähtien. |
| <b>Organism</b>    | Ihminen   |
| <b>Tissue</b>      | Aivot, R, parietaalinen   |
| <b>Disease</b>     | Glioblastooma (luokka IV)   |

## Ominaisuudet

|                          |   |
|--------------------------|---|
| <b>Age</b>               | 56 vuotta   |
| <b>Gender</b>            | Mies  |
| <b>Ethnicity</b>         | Kaukasialainen  |
| <b>Morphology</b>        | Sekoitus fibroblastin kaltaisia ja epiteelin kaltaisia soluja |
| <b>Growth properties</b> | Tarttuva  |

## Säätelytiedot

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| <b>Citation</b>             | HROG15 (Cytionin luettelonumero 300937) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1                                       |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                    |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_LD58                               |

## Biomolekyylitiedot

|                           |   |
|---------------------------|---|
| <b>Antigen expression</b> | HLA-A02 +, beetamikroglobuliini + HLA-E +, HLA-G -, MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +,GFAP+ , nestiini +, vimentini +, S-100+, GBM+, BTSC+ |
| <b>Mutational profile</b> | TP53 wR273C, PTENS170N , 17q11.2(NF) poistettu,   |

**HROG15-solut | 300937****Käsittely**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytionin artikkelinumero 820400a)

**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

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

**Fluid renewal** 3-5 päivän välein

**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme 50 % perusmediaa + 40 % FBS + 10 % DMSO:ta eli CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytysstressiä.

## HROG15-solut | 300937

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

### Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Ei mitään

### Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

## HROG15-solut | 300937

### Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

## Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

Mykoplasmaakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

### HLA-alleelit

**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