

HROG07 Sejtek | 300934

Általános információk

Description	Ez az egyik sejtvonal egy olyan tumorsejtvonal-sorozatból, amelyet Dr. Michael Linnebacher PD 2006 óta hoz létre primer CRC reszekciós mintákból.
Organism	Emberi
Tissue	Agy, R, temporoparietalis
Disease	Visszaesett glioblasztóma (IV. fokozat)

Jellemzők

Age	55 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Fibroblaszt-szerű és hámszerű sejtek keveréke
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	HROG07 (Cytion katalógusszám: 300934)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U42

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	GFAP + , nestin + , vimentin + , S-100 + , GBM + , BTSC + , EGFR +
Mutational profile	TP53 wt, PTENwt, 9q21.3 (CDKN2A) delétezve

HROG07 Sejtek | 300934**A kezelése**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion 820400a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal 3-5 naponta

Freeze medium A kriokonzerváláshoz 50%-os alapközeget + 40% FBS + 10% DMSO-t vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) használunk, amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regeneráció fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

HROG07 Sejtek | 300934

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HROG07 Sejtek | 300934

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

HLA allélok

A*: '02:01:01, '26:01:01
B*: '15:01:01, '27:05:02
C*: '03:03:01, '07:04:01
DRB1*: '08:01:01, '15:02:01
DQA1*: '01:03:01, '04:01:01
DQB1*: '04:02:01, '06:01:01
DPB1*: '04:01:01G, '05:01:01G
E: '01:03:01, '01:03:02