

**HROG02 Cellák | 300931****Általános információk**

<b>Description</b>	Ez az egyik sejtvonal egy olyan tumorsejtvonal-sorozatból, amelyet Dr. Michael Linnebacher PD 2006 óta hoz létre primer CRC reszekciós mintákból.
<b>Organism</b>	Emberi
<b>Tissue</b>	Agy, R, parietooccipitalis
<b>Disease</b>	Glioblasztóma (IV. fokozat)

**Jellemzők**

<b>Age</b>	68 év
<b>Gender</b>	Férfi
<b>Ethnicity</b>	Kaukázusi
<b>Morphology</b>	Fibroblaszt-szerű és hámszerű sejtek keveréke
<b>Growth properties</b>	Adherent

**Szabályozási adatok**

<b>Citation</b>	HROG02 (Cytion katalógusszám: 300931)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U38

**Biomolekuláris adatok**

<b>Antigen expression</b>	HLA-A02+, ICAM-1 + béta-mikroglobulin +, HLA-E+, HLA-G -, MIC A +, MIC-B -, GFAP+ , nestin +, vimentin +, S-100+, GBM+, BTSC+, BTSC+
<b>Mutational profile</b>	IDH 1 és 2 wt, TP53R248Q, 4q12(PDGFR) amplifikált, K-Ras wt, B-RAFwt, PTEN-

**HROG02 Cellák | 300931****A kezelése**

<b>Culture Medium</b>	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 NaHCO <sub>3</sub> (Cytion 820400a cikkszám)
<b>Supplements</b>	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	36-54 óra
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ sejt/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	3-5 naponta
<b>Freeze medium</b>	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.

**HROG02 Cellák | 300931****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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

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.

**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.

## HROG02 Cellák | 300931

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °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\***: '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