

## HROG05 ląstelės | 300940

## Bendra informacija

<b>Description</b>	Tai yra viena iš daugelio naviko ląstelių linijų, kurias nuo 2006 m. iš pirminių CRC rezekcinių mėginių sukūrė daktaras Michaelas Linnebacheris.
<b>Organism</b>	Žmogus
<b>Tissue</b>	Smegenys, L, laikinasis
<b>Disease</b>	Atsinaujinusi glioblastoma (IV laipsnio)

## Charakteristikos

<b>Age</b>	60 metų
<b>Gender</b>	Moteris
<b>Ethnicity</b>	Kaukaziečių
<b>Morphology</b>	Į fibroblastus panašių ir į epitelį panašių ląstelių mišinys
<b>Growth properties</b>	Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

<b>Citation</b>	HROG05 (Cytion katalogo numeris 300940)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U40

## Biomolekuliniai duomenys

<b>Antigen expression</b>	HLA-A02+, MHC I klasė - +MHC II klasė -, ICAM-1 + Beta-mikroglobulinas +, Beta-2-M+, HLA-E+, HLA-G mažas, MIC A mažas, MIC-B -, GFAP+, nestinas +, vimentinas +, S-100+, GBM+, BTSC+
<b>Mutational profile</b>	IDH 1 ir 2 wt, TP53wt, K-Ras G12D, B-RAFwt, 4q12(PDGFR) amplifikuota, PTEN P169S/del 212-229

## HROG05 ląstelės | 300940

## Tvarkymas

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO <sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820400a)
<b>Supplements</b>	Papildykite terpę 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	44-48 valandos
<b>Subculturing</b>	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ ląstelės/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Kas 3-5 dienas
<b>Freeze medium</b>	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 50 % bazinę terpę + 40 % FBS + 10 % DMSO arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## HROG05 ląstelės | 300940

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## HROG05 ląstelės | 300940

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.