

HROG06 Cellen | 300933

Algemene informatie

Description	Dit is één cellijn uit een serie tumorcellijnen die sinds 2006 door PD Dr. Michael Linnebacher zijn gemaakt van primaire CRC-resectie monsters.
Organism	Mens
Tissue	Hersenen, L, frontaal
Disease	Glioblastoom (graad IV)

Kenmerken

Age	53 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Een mengsel van fibroblast-achtige en epitheelachtige cellen
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HROG06 (Cytion catalogusnummer 300933)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellSaurusAccession	CVCL_4U41
Depositor	M. Linnebacher

Biomoleculaire gegevens

Antigen expression	HLA-A02 +, MHC klasse I -/MHC klasse II +, Beta-microglobuline +, HLA-E +, HLA-G +, MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, nestine +, vimentine +, S-100 +, GBM +, BTSC +
---------------------------	--

HROG06 Cellen | 300933

Mutational profile IDH 1 & 2 wt, TP53R273H, R306*, 4q12(PDGFRA) versterkt, K-Ras wt, B-RAFwt, PTEN(+1 op 126)

Omgaan met

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamine, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 57 tot 59 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:3 tot 1:6 wordt aanbevolen

Seeding density 1×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal Om de 3 tot 5 dagen

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we 50% basaal medium + 40% FBS + 10% DMSO, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en cryogeïnduceerde stress te verminderen.

HROG06 Cellen | 300933

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HROG06 Cellen | 300933

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 11,12
D16S539: 12,13
D5S818: 11
D7S820: 8
TH01: 7
TPOX: 8,10
vWA: 16,19
D3S1358: 15,17
D21S11: 28
D18S51: 14,16
Penta E: 10,20
Penta D: 12
D8S1179: 13,15
FGA: 22
D1S1656: 17.3
D6S1043: 12
D2S1338: 22,25
D12S391: 17.3,18
D19S433: 14,15.2

HROG06 Cellen | 300933

HLA-allelen

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