

HROG06 Celler | 300933

Generell informasjon

Description	Dette er én cellelinje i en serie av tumorcellelinjer som PD Dr. Michael Linnebacher har etablert fra primære CRC-reseksjonspreparater siden 2006.
Organism	Menneskelig
Tissue	Hjerne, L, frontal
Disease	Glioblastom (grad IV)

Kjennetegn

Age	53 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	En blanding av fibroblastlignende og epitellignende celler
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	HROG06 (Cytion-katalognummer 300933)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U41
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylære data

Antigen expression	HLA-A02 +, MHC klasse I -+MHC klasse II - +, Beta-mikroglobulin +, HLA-E +, HLA-G +, , MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, nestin +, vimentin +, S-100 +, GBM +, BTSC +
---------------------------	---

HROG06 Celler | 300933

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

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 57 til 59 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:3 til 1:6 anbefales

Seeding density 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal Hver 3. til 5. dag

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi 50 % basalmedium + 40 % FBS + 10 % DMSO, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

HROG06 Celler | 300933

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HROG06 Celler | 300933

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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

HLA-alleler

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