

## Komórki HROG06 | 300933

## Informacje ogólne

<b>Description</b>	Jest to jedna linia komórkowa z serii linii komórek nowotworowych, które zostały utworzone przez dr Michaela Linnebachera z próbek po resekcji pierwotnego raka jelita grubego od 2006 roku.
<b>Organism</b>	Człowiek
<b>Tissue</b>	Mózg, L, czołowy
<b>Disease</b>	Glejak wielopostaciowy (stopień IV)

## Charakterystyka

<b>Age</b>	53 lata
<b>Gender</b>	Męczyzna
<b>Ethnicity</b>	Kaukaski
<b>Morphology</b>	Mieszanka komórek podobnych do fibroblastów i komórek nabłonkowych
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Dane regulacyjne

<b>Citation</b>	HROG06 (numer katalogowy Cytion 300933)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U41
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

## Dane biomolekularne

<b>Antigen expression</b>	HLA-A02 +, MHC klasy I ->MHC klasy II - +, beta-mikroglobulina +, HLA-E +, HLA-G +, MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, nestin +, wimentyna +, S-100 +, GBM +, BTSC +
---------------------------	---

**Komórki HROG06 | 300933**

**Mutational profile** IDH 1 i 2 wt, TP53R273H, R306\*, amplifikacja 4q12 (PDGFRA), K-Ras wt, B-RAFwt, PTEN (+1 przy 126)

**Obsługa**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820400a)

**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 57 do 59 godzin

**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:3 do 1:6

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  komórek/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni

**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 50% pożywki podstawowej + 40% FBS + 10% DMSO lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

**Komórki HROG06 | 300933****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Komórki HROG06 | 300933****Shipping  
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage  
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

**Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA****Sterility**

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

**Profil STR**

**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

**Komórki HROG06 | 300933**

**Allele HLA**

**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