

Komórki HROG36 | 300939

Informacje ogólne

Description Ta linia komórkowa została wyizolowana z tkanki guza pacjenta przez PD dr Michaela Linnebachera i jest jedną z serii linii komórek nowotworowych, które zostały utworzone przez PD dr Michaela Linnebachera z próbek po resekcji pierwotnego raka jelita grubego od 2006 roku.

Organism Człowiek

Tissue Mózg, R, ciemieniowy

Disease Glejak wielopostaciowy (stopień III)

Charakterystyka

Age 80 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Morphology Podobne do nabłonka, podobne do fibroblastów

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HROG36 (numer katalogowy Cytion 300939)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_4U49

Depositor M. Linnebacher

Dane biomolekularne

Antigen expression GFAP+, nestyna +, wimentyna +, S-100+, GBM+, BTSC+

Komórki HROG36 | 300939

Mutational profile IDH 1 i 2 wt, TP53wt, K-Ras wt, B-RAFwt, MGMT CN=0, PTEN I5S

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 NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)

Supplements Uzpełnić podłoże 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 35 do 40 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 1×10^4 komórek/cm²

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 HROG36 | 300939

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°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°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 probówki 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°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HROG36 | 300939

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,x
CSF1PO: 11
D13S317: 11
D16S539: 10,11
D5S818: 11,12
D7S820: 9,12
TH01: 7,10
TPOX: 8,11
vWA: 14
D3S1358: 14,18
D21S11: 29,30
D18S51: 16
Penta E: 5,10
Penta D: 12
D8S1179: 14,15
FGA: 23
D1S1656: 12,17.3
D6S1043: 12,14
D2S1338: 17,23
D12S391: 20,23
D19S433: 15

Komórki HROG36 | 300939

Allele HLA

A*: '02:01:01, '25:01:01

B*: '40:01:02, '55:01:01

C*: '03:03:01, '03:04:01

DRB1*: '04:04:01, '14:54:01

DQA1*: '01:04:01, '03:01:01

DQB1*: '03:02:01, '05:03:01

DPB1*: '04:01:01G, '06:01:01G

E: '01:01, '01:03