

## 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 NaHCO<sub>3</sub> (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**  $1 \times 10^4$  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 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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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 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 wykluczone 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