

HROG06 Células | 300933**Informações gerais**

Description	Esta é uma linha celular de uma série de linhas celulares tumorais que foram estabelecidas pelo PD Dr. Michael Linnebacher a partir de espécimes de ressecção primária de CRC desde 2006.
Organism	Humano
Tissue	Cérebro, L, frontal
Disease	Glioblastoma (grau IV)

Caraterísticas

Age	53 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	Uma mistura de células semelhantes a fibroblastos e células semelhantes a epitélio
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	HROG06 (número de catálogo Cytion 300933)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U41

Dados biomoleculares

Antigen expression	HLA-A02 +, MHC classe I -+MHC classe II - +, Beta-microglobulina +, HLA-E +, HLA-G +, , MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, nestina +, vimentina +, S-100 +, GBM +, BTSC +
Mutational profile	IDH 1 & 2 wt, TP53R273H, R306*, 4q12(PDGFRA) amplificado, K-Ras wt, B-RAFwt, PTEN(+1 a 126)

HROG06 Células | 300933**Manuseamento**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), com: 3,1 g/L de glucose, com: 2,5 mM de L-Glutamina, com: 15 mM de HEPES, com: 0,5 mM de piruvato de sódio, com: 1,2 g/L de NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820400a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 57 a 59 horas

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Fluid renewal A cada 3 a 5 dias

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos 50% de meio basal + 40% de FBS + 10% de DMSO, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela criopreservação.

HROG06 Células | 300933

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

HROG06 Células | 300933

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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