

HROG04 Celice | 300932

Splošne informacije

Description	To je ena od celičnih linij iz serije tumorskih celičnih linij, ki jih je doktor Michael Linnebacher od leta 2006 vzpostavil iz vzorcev primarnih resekcij CRC.
Organism	Človek
Tissue	Možgani, R, čelni
Disease	Glioblastom (razred IV)

Značilnosti

Age	53 let
Gender	Ženske
Ethnicity	Kavkaški
Morphology	Mešanica celic, podobnih fibroblastom, in celic, podobnih epitelijam
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	HROG04 (Cytionova kataloška številka 300932)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U39

Biomolekularni podatki

Antigen expression	HLA-A02 +, MHC razred I -MHC razred II -, beta-mikroglobulin +, HLA-E +, HLA-G -, MIC A -, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, nestin +, vimentin +, S-100 +, GBM +, BTSC +
Mutational profile	PTENW274L, 9p212.3 (CDKN2A) izbrisan

HROG04 Celice | 300932**Ravnanje s spletno stranjo**

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (številka izdelka Cytion 820400a)

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Seeding density 1×10^4 celic/cm²

Fluid renewal Vsakih 3 do 5 dni

Freeze medium Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo 50 % osnovno gojišče + 40 % FBS + 10 % DMSO ali CM-1 (katalogska številka Cytion 800100), ki vsebuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, ki ga povzroča krio.

HROG04 Celice | 300932

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Nič

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

HROG04 Celice | 300932

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Aleli HLA

A*: '01:01:01, '05:35

B*: '08:01:01, '51:01:01

C*: '07:01:01, '15:02:01

DRB1*: '03:01:01, '11:01:01

DQA1*: '05:01:01, '05:05:01

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

DPB1*: '01:01:01, '04:01:01

E: '01:01:01