

## HROG06 Клітини | 300933

## Загальна інформація

<b>Description</b>	Це одна з клітинних ліній із серії ліній пухлинних клітин, які були створені доктором Міхаелем Ліннебахером із зразків первинної резекції КРР з 2006 року.
<b>Organism</b>	Людина
<b>Tissue</b>	Мозок, L, лобна частка
<b>Disease</b>	Гліобластома (IV ступінь)

## Характеристики

<b>Age</b>	53 роки
<b>Gender</b>	Чоловік
<b>Ethnicity</b>	Кавказець
<b>Morphology</b>	Суміш фібробластоподібних та епітеліоподібних клітин
<b>Growth properties</b>	Адепт

## Нормативні дані

<b>Citation</b>	HROG06 (номер за каталогом Cytion 300933)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4U41

## Біомолекулярні дані

<b>Antigen expression</b>	HLA-A02 +, МНС класу I -+МНС класу II - +, бета-мікроглобулін +, HLA-E +, HLA-G +, , MIC A +, MIC-B -, ICAM-1 +, GFAP +, нестин +, віментин +, S-100 +, GBM +, BTSC +
<b>Mutational profile</b>	IDH 1 і 2 мас, TP53R273H, R306*, 4q12(PDGFR) посиленій, K-Ras мас, B-RAFwt, PTEN(+1 при 126)

## HROG06 Клітини | 300933

## Обробка

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO <sub>3</sub> (цит. номер 820400a)
<b>Supplements</b>	Додайте до середовища 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Аккутаза
<b>Doubling time</b>	57 до 59 годин
<b>Subculturing</b>	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ клітин/см <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Кожні 3-5 днів
<b>Freeze medium</b>	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо 50% базальне середовище + 40% FBS + 10% ДМСО або СМ-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для покращення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## HROG06 Клітини | 300933

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте криовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи криовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Для оптимального прикріплення та життєздатності після розморожування ми рекомендуємо використовувати **колби або пластини з колагеновим покриттям**.

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## HROG06 Клітини | 300933

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

### HLA алелі

**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