

Células HROG05 | 300940**Informações gerais**

Description	Esta é uma das linhas celulares de uma série de linhas celulares tumorais que foram estabelecidas pelo PD Dr. Michael Linnebacher a partir de amostras de ressecção de CCR primário desde 2006.
Organism	Humano
Tissue	Cérebro, L, temporal
Disease	Glioblastoma recidivante (grau IV)

Características

Age	60 anos
Gender	Mulher
Ethnicity	caucasiano
Morphology	Uma mistura de células semelhantes a fibroblastos e células semelhantes a células epiteliais
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

Citation	HROG05 (número de catálogo da Cytion 300940)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_4U40

Dados biomoleculares

Antigen expression	HLA-A02+, MHC classe I - + MHC classe II -, ICAM-1 + beta-microglobulina +, beta-2-M+, HLA-E+, HLA-G baixo, , MIC A baixo, MIC-B -, GFAP+, nestina +, vimentina +, S-100+, GBM+, BTSC+
Mutational profile	IDH 1 e 2 selvagens, TP53 selvagem, K-Ras G12D, B-RAF selvagem, amplificação em 4q12 (PDGFRA), PTEN P169S/deleção 212-229

Células HROG05 | 300940**Manuseio**

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), p/v: 3,1 g/L de glicose, p/v: 2,5 mM de L-glutamina, p/v: 15 mM de HEPES, peso: 0,5 mM de piruvato de sódio, peso: 1,2 g/L de NaHCO ₃ (número de artigo da Cytion 820400a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	44 a 48 horas
Subculturing	Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.
Seeding density	1×10^4 células/cm ²
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 da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células HROG05 | 300940

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células HROG05 | 300940

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.