

**Células HROG02 | 300931****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, R, parieto-occipital

**Disease** Glioblastoma (grau IV)

**Características**

**Age** 68 anos

**Gender** Masculino

**Ethnicity** caucasiano

**Morphology** Uma mistura de células semelhantes a fibroblastos e células semelhantes a células epiteliais

**Growth properties** Aderente

**Dados regulatórios**

**Citation** HROG02 (número de catálogo da Cytion 300931)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_4U38

**Dados biomoleculares**

**Antigen expression** HLA-A02+, ICAM-1+, beta-microglobulina+, HLA-E+, HLA-G-, MIC A+, MIC-B-, GFAP+, nestina+, vimentina+, S-100+, GBM+, BTSC+

**Mutational profile** IDH 1 e 2 selvagens, TP53R248Q, amplificação em 4q12 (PDGFRA), K-Ras selvagem, B-RAF selvagem, PTEN-

**Células HROG02 | 300931****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<sub>3</sub> (número de artigo da Cytion 820400a)

**Supplements** Adicione 10% de FBS ao meio

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 36 a 54 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**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

**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 HROG02 | 300931

### 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  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $300 \times g$  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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5% de  $\text{CO}_2$ , 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  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  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O armazenamento a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

## Controle de Qualidade e Análise Molecular

## Células HROG02 | 300931

### **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.