

## Клетки HROC296 | 300853

## Обща информация

<b>Description</b>	Това е една клетъчна линия от поредица туморни клетъчни линии, създадени от д-р Майкъл Линебахер от 2006 г. насам от първични резекционни проби от CRC.
<b>Organism</b>	Човек
<b>Tissue</b>	Colon ascendens, UICC Iia
<b>Disease</b>	Първичен аденокарцином, TNM стадий T3N0M0R0L0V0, степен G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 35

## Характеристики

<b>Age</b>	92 години
<b>Gender</b>	Жена
<b>Ethnicity</b>	Кавказки
<b>Morphology</b>	Подобни на епител
<b>Growth properties</b>	Придържачи се

## Регулаторни данни

<b>Citation</b>	HROC296 (каталожен номер 300853 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1V02

## Биомолекулярни данни

<b>Antigen expression</b>	CD326+
<b>Viruses</b>	Не съдържа човешки патогенни вируси SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

## Клетки HROC296 | 300853

## Работа с

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (номер на изделието на Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	29 часа
<b>Subculturing</b>	Отстранете средата и изплакнете адхезираните клетки, като използвате PBS без калций и магнезий (3-5 ml PBS за T25, 5-10 ml за колби за клетъчни култури T75). Добавете TrypLE Express (1-2 ml за T25, 2,5 ml за колба за клетъчни култури T75), като клетъчният лист трябва да бъде покрит напълно. Инкубирайте при 37 градуса по Целзий за 10-15 минути. Внимателно ресуспендирайте клетките с хранителна среда (10 ml), центрофугирайте за 3 min при 300xg, ресуспендирайте клетките в прясна хранителна среда и разпределете в нови колби, които съдържат прясна хранителна среда. Тази клетъчна линия ще доведе до единична клетъчна суспензия. Препоръчва се да се използват колби с колагеново покритие.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ клетки/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	На всеки 3 до 5 дни
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Бърз
<b>Freeze medium</b>	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

## Клетки HROC296 | 300853

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

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

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Клетки HROC296 | 300853

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.