

Buňky HROC183 | 300809

Obecné informace

Description	Jedná se o jednu buněčnou linii ze série nádorových buněčných linií, které od roku 2006 vytvořil Dr. Michael Linnebacher z primárních resektátů CRC.
Organism	Člověk
Tissue	Colon ascendens, UICC IIIb
Disease	Primární adenokarcinom, TNM stadium T3N2M0R0L1V0, grading G3, Lk(n) +12, Σ Lk(n) 12
Synonyms	HROC183P

Charakteristika

Age	59 let
Gender	Ženy
Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	HROC183 (katalogové číslo Cytion 300809)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D16
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekulární data

Buňky HROC183 | 300809

Protein expression	PTEN
Antigen expression	CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73low, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133low, CD66acdewweak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIweak po léčbě IFN-γ, EpCAM+
Tumorigenic	Ano, u imunosuprimovaných nahých myší
Viruses	Neobsahuje lidské patogenní viry SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.
Ploidy status	Aneuploidní
MSI-status	MSS
Mutational profile	APCR1450*, p53R280W, K-RasG12d, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt
Zpracování	
Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukózy, w: 2,5 mM L-Glutaminu, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pyruvátu sodného, w: 1,2 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	29 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčičku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8
Seeding density	2 x 10 ⁴ buněk/cm ²
Fluid renewal	Každých 3 až 5 dní

Buňky HROC183 | 300809

Post-Thaw Recovery

Rychle

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $300 \times g$ po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Buňky HROC183 | 300809

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 10,11
D13S317: 11,12
D16S539: 11,13
D5S818: 11,13
D7S820: 10,11
TH01: 8,10
TPOX: 8,11
vWA: 18