

Buňky HROC296 | 300853

Obecné informace

Description Jedná se o jednu buněčnou linii ze série nádorových buněčných linií, které od roku 2006 vytvořil Dr. Michael Linnebacher z primárních resekátů CRC.

Organism Člověk

Tissue Colon ascendens, UICC Iia

Disease Primární adenokarcinom, TNM stadium T3N0M0R0L0V0, grading G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 35

Charakteristika

Age 92 let

Gender Ženy

Ethnicity Kavkazský

Morphology Epitelu podobné

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation HROC296 (katalogové číslo Cytion 300853)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1V02

Depositor M. Linnebacher

Biomolekulární data

Antigen expression CD326+

Buňky HROC296 | 300853

Viruses Neobsahuje lidské patogenní viry SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

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 NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820400a)

Supplements Doplněte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 29 hodin

Subculturing Odstraňte médium a opláchněte adheované buňky pomocí PBS bez vápníku a hořčičku (3-5 ml PBS pro baňky T25, 5-10 ml pro baňky T75). Přidejte TrypLE Express (1-2 ml na T25, 2,5 ml na baňku s buněčnou kulturou T75), buněčný list musí být zcela pokryt. Inkubujte při teplotě 37 °C po dobu 10 až 15 minut. Opatrně resuspendujte buňky s médiem (10 ml), odstředujte 3 minuty při 300xg, resuspendujte buňky v čerstvém médiu a rozdělte do nových baněk, které obsahují čerstvé médium. Výsledkem této buněčné linie bude suspenze jednotlivých buněk. Doporučuje se používat baňky potažené kolagenem.

Split ratio Doporučuje se poměr 1:4 až 1:8

Seeding density 2×10^4 buněk/cm²

Fluid renewal Každých 3 až 5 dní

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.

Buňky HROC296 | 300853

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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 °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 °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 x 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 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

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

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.

Buňky HROC296 | 300853

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.