

Buňky HROC212 | 300811

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 coecum, UICC IV |
| Disease | Primární adenokarcinom, TNM stadium T4N2M1R0 L1 V0 , grading G3, Lk(n) +7, Σ Lk(n) 20 |
| Synonyms | HROC212P |

Charakteristika

| | |
|--------------------------|-----------------|
| Age | 74 let |
| Gender | Ženy |
| Ethnicity | Kavkazský |
| Morphology | Epitelu podobné |
| Growth properties | Adherentní |

Regulační údaje

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | HROC212 (katalogové číslo Cytion 300811) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1U84 |
| Depositor | M. Linnebacher |

Biomolekulární data

Buňky HROC212 | 300811

| | |
|---------------------------|--|
| Protein expression | PTEN |
| Tumorigenic | Ano, u imunosuprimovaných nahých myší |
| Viruses | Neobsahuje lidské patogenní viry SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV. |
| Ploidy status | Euploid |
| MSI-status | MSI-H |
| Mutational profile | K-Raswt, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafmut |

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 adheovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. 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 1:3 až 1:6 |
| Seeding density | 2×10^4 buněk/cm ² |
| Fluid renewal | Každých 3 až 5 dní |
| Post-Thaw Recovery | 1 až 2 týdny |

Buňky HROC212 | 300811

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 HROC212 | 300811

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.