

## Κύτταρα HROC296 | 300853

## Γενικές πληροφορίες

**Description** Πρόκειται για μια κυτταρική σειρά από μια σειρά κυτταρικών σειρών όγκου που έχει δημιουργήσει ο PD Dr. Michael Linnebacher από δείγματα πρωτογενούς εκτομής CRC από το 2006.

**Organism** Ανθρώπινο

**Tissue** Colon ascendens, UICC Iia

**Disease** Πρωτοπαθές αδenoκαρκίνωμα, στάδιο TNM T3N0M0R0L0V0, διαβάθμιση G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 35

## Χαρακτηριστικά

**Age** 92 χρόνια

**Gender** Γυναίκα

**Ethnicity** Καυκάσιος

**Morphology** Επιθηλιοειδής

**Growth properties** Προσκολλημένο

## Ρυθμιστικά δεδομένα

**Citation** HROC296 (αριθμός καταλόγου Cytion 300853)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellSaurusAccession** CVCL\_1V02

## Βιομοριακά δεδομένα

**Antigen expression** CD326+

**Viruses** Χωρίς ανθρώπινους παθογόνους ιούς SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

## Κύτταρα HROC296 | 300853

## Χειρισμός

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)
<b>Supplements</b>	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	29 ώρες
<b>Subculturing</b>	Αφαιρέστε το μέσο και ξεπλύνετε τα προσκολλημένα κύτταρα χρησιμοποιώντας PBS χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο (3-5 ml PBS για φιάλες κυτταροκαλλιέργειας T25, 5-10 ml για φιάλες κυτταροκαλλιέργειας T75). Προσθέστε TrypLE Express (1-2ml ανά φιάλη κυτταροκαλλιέργειας T25, 2,5ml ανά φιάλη κυτταροκαλλιέργειας T75), το φύλλο κυττάρων πρέπει να καλυφθεί πλήρως. Επώαση στους 37 βαθμούς Κελσίου για 10 έως 15 λεπτά. Ανασυσσωματώστε προσεκτικά τα κύτταρα με μέσο (10 ml), φυγοκεντρήστε για 3 λεπτά στα 300xg, ανασυσσωματώστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και διανείμετε σε νέες φιάλες που περιέχουν φρέσκο μέσο. Αυτή η κυτταρική σειρά θα οδηγήσει σε εναιώρημα μεμονωμένων κυττάρων. Συνιστάται η χρήση φιαλών επικαλυμμένων με κολλαγόνο.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ κύτταρα/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Κάθε 3 έως 5 ημέρες
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Γρήγορη
<b>Freeze medium</b>	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Κύτταρα HROC296 | 300853****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

**Freezing  
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

## Κύτταρα HROC296 | 300853

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.