

## HROC296 rakud | 300853

## Üldine teave

<b>Description</b>	Tegemist on ühe rakuliiniga kasvajakude seeriast, mille PD Dr. Michael Linnebacher on alates 2006. aastast loonud primaarse CRC reseksiooniproovidest.
<b>Organism</b>	Inimene
<b>Tissue</b>	Colon ascendens, UICC IIA
<b>Disease</b>	Primaarne adenokartsinoom, TNM staadium T3N0M0R0L0V0, klassifikatsioon G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 35

## Omadused

<b>Age</b>	92 aastat
<b>Gender</b>	Naised
<b>Ethnicity</b>	Kaukaasia
<b>Morphology</b>	Epiteelilaadsed
<b>Growth properties</b>	Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

<b>Citation</b>	HROC296 (Cytioni katalooginumber 300853)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1V02

## Biomolekulaarsed andmed

<b>Antigen expression</b>	CD326+
<b>Viruses</b>	Vabad inimpatogeensetest viirustest SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

## HROC296 rakud | 300853

## Töötlemine

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (Cytioni artikli number 820400a)
<b>Supplements</b>	Täiendada söötme 10% FBS-ga
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	29 tundi
<b>Subculturing</b>	Eemaldage keskkond ja loputage kinni jäänud rakud, kasutades PBS-i ilma kaltsiumi ja magneesiumita (3-5 ml PBS-i T25, 5-10 ml T75 rakukultuurikolbide puhul). Lisage TrypLE Express (1-2 ml T25, 2,5 ml T75 rakukultuurikolbi kohta), rakukile peab olema täielikult kaetud. Inkubeerige temperatuuril 37 kraadi Celsiuse järgi 10-15 minutit. Resuspenseerige rakud ettevaatlikult söötmega (10 ml), tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures, resuspenseerige rakud värskes söötmes ja doseerige uutesse kolvidesse, mis sisaldavad värsket söötme. Selle rakuliini puhul saadakse üksikute rakkude suspensioon. Soovitatav on kasutada kollageeniga kaetud koldeid.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ rakku/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Iga 3 kuni 5 päeva tagant
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Kiire
<b>Freeze medium</b>	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

## HROC296 rakud | 300853

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300\text{ x g}$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## HROC296 rakud | 300853

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.