

## 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  $300 \times g$  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**

Puudub

**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.