

HROC43 rakud | 300823

Üldine teave

| | |
|--------------------|--|
| Description | Tegemist on ühe rakuliiniga kasvajakude seeriast, mille PD Dr. Michael Linnebacher on alates 2006. aastast loonud primaarse CRC reseksiooniproovidest. |
| Organism | Inimene |
| Tissue | Colon ascendens, UICC IIIb |
| Disease | Primaarne adenokartsinoom, TNM staadium T3N2M0R0L1V0, liigitus G3, Lk(n) + 30, Σ Lk(n) 36 |

Omadused

| | |
|--------------------------|-----------------|
| Age | 72 aastat |
| Gender | Mees |
| Ethnicity | Kaukaasia |
| Morphology | Epiteelilaadsed |
| Growth properties | Kinnipeetav |

Regulatiivsed andmed

| | |
|-----------------------------|---|
| Citation | HROC43 (Cytioni katalooginumber 300823) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_1D20 |

Biomolekulaarsed andmed

| | |
|---------------------------|---|
| Protein expression | PTEN |
| Antigen expression | CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73+, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133-, CD66acdewweak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIweak pärast IFN-γ ravi, EpCAM+ |

HROC43 rakud | 300823

| | |
|---------------------------|---|
| Tumorigenic | Jah, immuunsupressiooniga alasti hiirtel |
| Viruses | Vabad inimpatogeensetest viirustest SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV. |
| Ploidy status | Aneuploidne |
| MSI-status | MSS |
| Mutational profile | APCQ1429*, p53S241fs*5, K-Rasmut, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt |

Töötlemine

| | |
|-----------------------------|--|
| Culture Medium | 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 ₃ (Cytioni artikli number 820400a) |
| Supplements | Täiendada söötme 10% FBS-ga |
| Dissociation Reagent | Accutase |
| Doubling time | 27 tundi |
| Subculturing | Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda. |
| Seeding density | 2×10^4 rakku/cm ² |
| Fluid renewal | Iga 3 kuni 5 päeva tagant |
| Post-Thaw Recovery | 1 nädal |
| Freeze medium | 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. |

HROC43 rakud | 300823

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 rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 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 söötmekekkond 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% 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.

HROC43 rakud | 300823

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.