

## HROC18 ląstelės | 300808

## Bendra informacija

<b>Description</b>	Tai viena iš ląstelių linijų, kurias nuo 2006 m. sukūrė daktaras Michaelas Linnebacheris. HROC18 buvo gauta iš pirminės šviesių ląstelių adenokarcinomos. Ląstelės yra rutuliškos, su neryškiomis ribomis, turi didelį branduolio ir citoplazmos santykį ir pasižymi tiek mikrovilteliais, tiek desmosomomis. Jas galima auginti minkštame agare.
<b>Organism</b>	Žmogus
<b>Tissue</b>	Storoji žarna (akloji žarna), UICC I
<b>Disease</b>	Pirminė adenokarcinoma, TNM stadija T2N0M0 R0L0V0, gradingas G2, Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 28
<b>Metastatic site</b>	Not applicable (UICC stage I; TNM T2N0M0; no regional or distant metastasis)
<b>Applications</b>	Colorectal cancer research; early-stage CRC biology; APC/p53 mutant CRC modeling; drug sensitivity and targeted therapy evaluation; CRC immunology; patient-matched HROC biobank studies
<b>Synonyms</b>	HROC 18

## Charakteristikos

<b>Age</b>	65 metai
<b>Gender</b>	Moteris
<b>Ethnicity</b>	Kaukaziečių
<b>Morphology</b>	epitelį panašus
<b>Cell type</b>	Epithelial cells
<b>Growth properties</b>	Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

<b>Citation</b>	HROC18 (Cytion katalogo numeris 300808)
<b>Biosafety level</b>	1

## HROC18 ląstelės | 300808

**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0B45**GMO Status** No genetic modification; wildtype patient-derived CRC cell line established by PD Dr. Linnebacher. Confirmed free of HBV, HCV, HIV.

## Biomolekuliniai duomenys

**Protein expression** Beta-aktinas, osteopontinas, PTEN**Antigen expression** CD15+, CD24+, CD44+, CD55+, CD58+, CD50+, CD 54+, CD66acde+, CD71+, CD102+, CD326+ , CD80- , CD86-, EpCAM+, HLA-A2+, EGFR+**Tumorigenic** Taip, su imunosupresinėmis nuogomis pelėmis**Viruses** Žmogaus patogeninių virusų HBV, HCV, ŽIV neturi.**Ploidy status** Aneuploidinis**MSI-status** MSS**Mutational profile** APCmut, p53mut, K-Raswt, N-Raswt, H-Raswt, B-RAFwt, PIK3CA mut

## Tvarkymas

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l gliukozės, w: 2,5 mM L-glutamino, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrio piruvato, w: 1,2 g/l NaHCO<sub>3</sub> (Cytion gaminio numeris 820400a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 valandų

**HROC18 ląstelės | 300808**

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Split ratio** 1 to 3

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Kas 3-5 dienas

**Post-Thaw Recovery** 1-2 savaitės

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## HROC18 ląstelės | 300808

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite  $300 \times g$  greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## HROC18 ląstelės | 300808

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**A\***: '01:01:01, '02:01:01

**B\***: '08:01:01, '39:24:01

**C\***: '07:01:01

**DRB1\***: '03:01:01, '13:03:01

**DQA1\***: '05:01:01, '05:05:01

**DQB1\***: '02:01:01, '03:01:01

**DPB1\***: '01:01:01, '04:01:01

**E**: '01:01, '01:03