

## HHC6548 T1 M1 ląstelės | 300832

## Bendra informacija

<b>Description</b>	Tai yra viena iš kolorektalinio vėžio, plaučių vėžio, skrandžio naviko ir gliomos ląstelių linijų, kurias nuo 2006 m. sukūrė PD Dr. Michael Linnebacher.
<b>Organism</b>	Žmogus
<b>Tissue</b>	Colon ascendens, UICC IIIc, sukurtas iš paciento ksenografinio pirminio CRC audinio (Colon ascendens, TNM stadija T3N2Mx, G3 laipsnis).
<b>Disease</b>	Adenokarcinoma

## Charakteristikos

<b>Age</b>	26 metai
<b>Gender</b>	Vyras
<b>Ethnicity</b>	Kaukaziečių
<b>Morphology</b>	epitelį panašus
<b>Growth properties</b>	Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

<b>Citation</b>	HHC6548 T1 M1 (Cytion katalogo numeris 300832)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1U94

## Biomolekuliniai duomenys

<b>Protein expression</b>	PTEN-
<b>Tumorigenic</b>	Taip, su imunosupresinėmis nuogomis pelėmis

## HHC6548 T1 M1 ląstelės | 300832

<b>Ploidy status</b>	Euploidinis
<b>MSI-status</b>	MSI-H
<b>Mutational profile</b>	K-Ras G13D, N-Ras wt, H-Raswt, B-Rafwt, PIK3CAwt

## Tvarkymas

<b>Culture Medium</b>	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)
<b>Supplements</b>	Papildykite terpę 10 % FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	26 valandos
<b>Subculturing</b>	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.
<b>Seeding density</b>	$1 \times 10^4$ ląstelės/cm <sup>2</sup>
<b>Fluid renewal</b>	Kas 3-5 dienas
<b>Post-Thaw Recovery</b>	greitai
<b>Freeze medium</b>	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.

## HHC6548 T1 M1 ląstelės | 300832

### 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 x 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.

## HHC6548 T1 M1 ląstelės | 300832

### 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\***: '03:01:01, '24:02:01

**B\***: 35:XX, 37:01:01

**C\***: '04:01:01, '06:02:01

**DRB1\***: '01:01:01G, '04:01:01

**DQA1\***: '01:01:01, '03:01:01

**DQB1\***: '03:02:01, '05:01:01

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

**E**: '01:01:01, '01:06:01