

## HROC296 ląstelės | 300853

## Bendra informacija

**Description** Tai yra viena iš daugelio naviko ląstelių linijų, kurias nuo 2006 m. iš pirminių CRC rezekcinių mėginių sukūrė daktaras Michaelas Linnebacheris.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Colon ascendens, UICC IIA

**Disease** Pirminė adenokarcinoma, TNM stadija T3N0M0R0L0V0, gradingas G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 35

## Charakteristikos

**Age** 92 metai

**Gender** Moteris

**Ethnicity** Kaukaziečių

**Morphology** Į epitelį panašus

**Growth properties** Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** HROC296 (Cytion katalogo numeris 300853)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_1V02

## Biomolekuliniai duomenys

**Antigen expression** CD326+

**Viruses** Be žmogaus patogeninių virusų SV40, JC/BK, HBV, HCV, ŽIV.

## HROC296 ląstelės | 300853

## 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>	29 valandos
<b>Subculturing</b>	Pašalinkite terpę ir nuplaukite prilipusias ląsteles, naudodami PBS be kalcio ir magnio (3-5 ml PBS T25, 5-10 ml T75 ląstelių kultūrų kolbose). Įpilkite "TrypLE Express" (1-2 ml į T25, 2,5 ml į T75 ląstelių kultūrų kolbą), ląstelės turi būti visiškai padengtos. Inkubuokite 10-15 minučių 37 laipsnių Celsijaus temperatūroje. Atsargiai permaiškite ląsteles su terpe (10 ml), 3 min. centrifuguokite 300xg greičiu, permaiškite ląsteles šviežioje terpėje ir išpilstykite į naujas kolbas, kuriose yra šviežia terpė. Šios ląstelių linijos ląstelių suspensijos bus pavienės. Rekomenduojama naudoti kolagenu dengtas kolbas.
<b>Seeding density</b>	$2 \times 10^4$ 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.

## HROC296 ląstelės | 300853

### 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.

## HROC296 ląstelės | 300853

### 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.