

## HROC296-celler | 300853

## Generell informasjon

<b>Description</b>	Dette er én cellelinje i en serie av tumorcellelinjer som PD Dr. Michael Linnebacher har etablert fra primære CRC-reseksjonspreparater siden 2006.
<b>Organism</b>	Menneskelig
<b>Tissue</b>	Colon ascendens, UICC lia
<b>Disease</b>	Primært adenokarsinom, TNM-stadium T3N0M0R0L0V0, gradering G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 35

## Kjennetegn

<b>Age</b>	92 år
<b>Gender</b>	Kvinne
<b>Ethnicity</b>	Kaukasisk
<b>Morphology</b>	Epitel-lignende
<b>Growth properties</b>	Vedhengende

## Regulatoriske data

<b>Citation</b>	HROC296 (Cytion-katalognummer 300853)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_1V02
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

## Biomolekylære data

<b>Antigen expression</b>	CD326+
---------------------------	--------

**HROC296-celler | 300853**

**Viruses** Fri for humanpatogene virus SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

**Håndtering**

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820400a)

**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 29 timer

**Subculturing** Fjern mediet og skyll de adherente cellene med PBS uten kalsium og magnesium (3-5 ml PBS for T25, 5-10 ml for T75-cellekulturflasker). Tilsett TrypLE Express (1-2 ml per T25, 2,5 ml per T75-cellekulturkolbe), celloarket må være helt dekket. Inkuber ved 37 grader Celsius i 10 til 15 minutter. Resuspender cellene forsiktig med medium (10 ml), sentrifuger i 3 minutter ved 300xg, resuspender cellene i nytt medium og fordel dem i nye kolber som inneholder nytt medium. Denne cellelinjen vil resultere i enkeltcellesuspensjon. Det anbefales å bruke kollagenbelagte kolber.

**Split ratio** Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales

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

**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag

**Post-Thaw Recovery** Rask

**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

## HROC296-celler | 300853

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ °C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ °C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ °C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ °C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ °C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## HROC296-celler | 300853

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.