

Komórki HROC296 | 300853

Informacje ogólne

Description	Jest to jedna linia komórkowa z serii linii komórek nowotworowych, które zostały utworzone przez dr Michaela Linnebachera z próbek po resekcji pierwotnego raka jelita grubego od 2006 roku.
Organism	Człowiek
Tissue	Colon ascendens, UICC IIA
Disease	Pierwotny gruczolakorak, stopień zaawansowania TNM T3N0M0R0L0V0, stopień G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 35

Charakterystyka

Age	92 lata
Gender	Kobieta
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	HROC296 (numer katalogowy Cytion 300853)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1V02
Depositor	M. Linnebacher

Dane biomolekularne

Antigen expression	CD326+
---------------------------	--------

Komórki HROC296 | 300853

Viruses Wolny od ludzkich wirusów chorobotwórczych SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

Obsługa

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 29 godzin

Subculturing Usunac pozywke i przeplukaac przylegajace komorki uzywajac PBS bez wapnia i magnezu (3-5 ml PBS na kolbe T25, 5-10 ml na kolbe T75). Dodaj TrypLE Express (1-2 ml na kolbe T25, 2,5 ml na kolbe T75), arkusz komorek musi byc caklowicie pokryty. Inkubowac w temperaturze 37 stopni Celsjusza przez 10 do 15 minut. Ostroznie ponownie zawiesic komorki w pozywce (10 ml), wirowac przez 3 minuty przy 300xg, ponownie zawiesic komorki w swiezey pozywce i przeniesc do nowych kolb zawierajacych swiezą pozywke. Ta linia komorek spowoduje powstanie zawiesiny pojedynczych komorek. Zaleca sie stosowanie kolb pokrytych kolagenem.

Split ratio Zalecane sa proporcje od 1:4 do 1:8

Seeding density 2×10^4 komorek/cm²

Fluid renewal Co 3 do 5 dni

Post-Thaw Recovery Szybko

Freeze medium Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiakszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki HROC296 | 300853**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HROC296 | 300853

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.