

## Komórki HROC296 | 300853

## Informacje ogólne

<b>Description</b>	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.
<b>Organism</b>	Człowiek
<b>Tissue</b>	Colon ascendens, UICC IIA
<b>Disease</b>	Pierwotny gruczolakorak, stopień zaawansowania TNM T3N0M0R0L0V0, stopień G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 35

## Charakterystyka

<b>Age</b>	92 lata
<b>Gender</b>	Kobieta
<b>Ethnicity</b>	Kaukaski
<b>Morphology</b>	Podobny do nabłonka
<b>Growth properties</b>	Adherent

## Dane regulacyjne

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

## Dane biomolekularne

<b>Antigen expression</b>	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 NaHCO<sub>3</sub> (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**  $2 \times 10^4$  komorek/cm<sup>2</sup>

**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  $-150^{\circ}\text{C}$ , 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  $37^{\circ}\text{C}$  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

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę 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.