

## Клітини HROC324 | 300838

## Загальна інформація

|                    |  |
|--------------------|--|
| <b>Description</b> | Це одна з клітинних ліній із серії ліній пухлинних клітин, які були створені доктором Міхаелем Ліннебахером із зразків первинної резекції КРР з 2006 року. |
| <b>Organism</b>    | Людина   |
| <b>Tissue</b>      | Товста кишка, UICC IIIb  |
| <b>Disease</b>     | Первинна аденокарцинома, стадія TNM T3N2M0R0L1V0, градація G3, Lk(n) +5, Σ Lk(n) 24  |

## Характеристики

|                          |                     |
|--------------------------|---------------------|
| <b>Age</b>               | 55 років            |
| <b>Gender</b>            | Жінка               |
| <b>Ethnicity</b>         | Кавказець           |
| <b>Morphology</b>        | Епітеліальноподібні |
| <b>Growth properties</b> | Адепт               |

## Нормативні дані

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| <b>Citation</b>             | HROC324 (номер за каталогом Cytion 300838) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1  |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                       |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_1V00                                  |

## Біомолекулярні дані

|                           |   |
|---------------------------|---|
| <b>Protein expression</b> | PTEN  |
| <b>Tumorigenic</b>        | Так, у голих мишей з пригніченим імунітетом |

## Клітини HROC324 | 300838

**Viruses** Не містить патогенних вірусів SV40, JC/БК, HBV, HCV, ВІЛ.

**MSI-status** MSI-H

**Mutational profile** K-RasA59T, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt, MSH6 c.3417AC, p.Lys1140Gln (Exon5)

## Обробка

**Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 г/л Глюкоза, w: 2,5 мМ L-глутамін, w: 15 мМ HEPES, w: 0,5 мМ Піруват натрію, w: 1,2 г/л NaHCO<sub>3</sub> (цит. номер 820400a)

**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS

**Dissociation Reagent** Аккутаза

**Doubling time** 29 годин

**Subculturing** Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  клітини/см<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Кожні 3-5 днів

**Post-Thaw Recovery** Швидко

**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

## Клітини HROC324 | 300838

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче  $-150^{\circ}\text{C}$ , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі  $37^{\circ}\text{C}$ , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при  $300 \times g$  протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , волога атмосфера.

**Flask Coating**

Ні

**Freezing  
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно  $-78^{\circ}\text{C}$  під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

## Клітини HROC324 | 300838

### Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

### Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

## Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

### Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

### HLA алелі

**A\***: '03:01:01  
**B\***: '07:02:01  
**C\***: '07:02:01  
**DRB1\***: '13:02:01G  
**DQA1\***: '01:02:01  
**DQB1\***: '06:04:01G  
**DPB1\***: '02:01:02  
**E**: '01:03:02