

Клітини HROC69 | 300828

Загальна інформація

Description	Це одна з клітинних ліній із серії ліній пухлинних клітин, які були створені доктором Міхаелем Ліннебахером із зразків первинної резекції КРР з 2006 року.
Organism	Людина
Tissue	Colon ascendens, UICC IIIa
Disease	Первинна аденокарцинома, стадія TNM T3N0M1R0L0V0, градація G3, Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 34
Synonyms	HROC69P

Характеристики

Age	62 роки
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	HROC69 (номер за каталогом Cytion 300828)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1G06

Біомолекулярні дані

Protein expression	Бета-актин, остеопонтин -, Toll-подібний рецептор (TLR) 3 -, TLR4 помірний, TLR7 низький, TLR8 -, PTEN
---------------------------	--

Клітини HROC69 | 300828

Antigen expression Високий рівень експресії фосфатидилсерину (PS)

Tumorigenic Так, у голих мишей з пригніченим імунітетом

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

Ploidy status Анеуплоїдний

MSI-status MSS

Mutational profile APCR1450*, p53R306*, K-Raswt, B-RAFwt, N-Raswt, H-Raswt, SNP rs12628 кодон 27, PIK3CAwt

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 NaHCO₃ (цит. номер 820400a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Doubling time від 25 до 40 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 2×10^4 клітини/см²

Fluid renewal Кожні 3-5 днів

Post-Thaw Recovery 2 тижні

Клітини HROC69 | 300828

Freeze medium

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

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°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°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. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини HROC69 | 300828

Freezing Procedure

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.

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.