

HROC103 T0 M1 Клетки | 300802

Обща информация

Description	Това е една от поредицата клетъчни линии, създадени от д-р Майкъл Линебахер от ксенографт на тумор, получен от пациент (PDTx), от 2006 г. насам.
Organism	Човек
Tissue	Колоректален, създаден от PDX (ксенографт, получен от пациент) на първична тъкан на CRC (Colon ascendens, TNM стадий T2N1M0R0L0V0, степен G2, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 23).
Disease	Аденокарцином
Metastatic site	Засегнати регионални лимфни възли (TNM N1; Lk(n)+2 от 23 изследвани); липса на отдалечени метастази (M0)
Applications	Изследвания в областта на колоректалния рак; биология на колоректалния рак; изследвания на клетъчни линии, получени чрез PDX; оценка на лекарствената чувствителност и целевата терапия; моделиране на колоректален рак с мутации в p53/KRAS; имунология на колоректалния рак с минимална серологична стабилност (MSS); проучвания с биобанка от HROC проби, подбрани според пациентите
Synonyms	HROC103

Характеристики

Age	44 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Малки клетки в колонии
Cell type	Епителиален
Growth properties	Придържачи се

Регулаторни данни

Citation	HROC103 T0 M1 (каталожен номер 300802 на Cytion)
-----------------	--

HROC103 T0 M1 Клетки | 300802

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D10**GMO Status** Без генетична модификация; клетъчна линия от колоректален карцином (CRC) от пациент, съответстваща на дивия тип, създадена от ксенографт, получен от пациент, от доц. д-р Линнебахер**Биомолекулярни данни****Ploidy status** Анеуплоидни**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt**Работа с****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L глюкоза, w: 2,5 mM L-глутамин, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM натриев пируват, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (номер на изделието на Cytion 820400a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 часа**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.**Split ratio** от 1 до 3**Seeding density** 2×10^4 клетки/cm²

HROC103 T0 M1 Клетки | 300802**Fluid renewal** На всеки 3 до 5 дни**Post-Thaw Recovery** Няколко дни**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.**Thawing and Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

HROC103 T0 M1 Клетки | 300802

Flask Coating Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.