

HROC183 T0 M2-celler | 300810

Generel information

Description	Dette er en cellelinje i en serie af tumorcellelinjer, som er blevet etableret af PD Dr. Michael Linnebacher fra primære CRC-resektionsprøver siden 2006.
Organism	Menneske
Tissue	Colon ascendens, UICC IIIb, etableret fra et patientafledt xenotransplantat af primært CRC-væv (Colon ascendens, TNM-stadie T3N2M0R0L1V0, grading G3, Lk(n) +12, Σ Lk(n) 12).
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	HROC183x

Karakteristika

Age	59 år
Gender	Kvinde
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	HROC183 T0 M2 (Cytion katalognummer 300810)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D17

Biomolekylære data

Protein expression	PTEN
---------------------------	------

HROC183 T0 M2-celler | 300810

Antigen expression CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73low, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133low, CD66acdewweak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIweak efter IFN- γ -behandling, EpCAM+

Tumorigenic Yees, i immunsupprimerede nøgenmus

Viruses Fri for humanpatogene vira SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

Ploidy status Aneuploid

MSI-status MSS

Mutational profile APCR1450*, p53R280W, K-RasG12d, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

Håndtering

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L Glucose, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM Sodium pyruvate, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 29 timer

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Seeding density 2×10^4 celler/cm²

Fluid renewal Hver 3. til 5. dag

Post-Thaw Recovery Hurtig

HROC183 T0 M2-celler | 300810

Freeze medium

Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tør is for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

HROC183 T0 M2-celler | 300810

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.