

HROC46 T0 M1-celler | 300824

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 IV, etableret fra et patientafledt xenotransplantat af primært CRC-væv (Colon ascendens, TNM-stadie T3N0M1R2L0V1, gradering G3, Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 34)
Disease	Adenokarcinom
Synonyms	HROC46

Karakteristika

Age	66 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	HROC46 T0 M1 (Cytion katalognummer 300824)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D21

Biomolekylære data

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

HROC46 T0 M1-celler | 300824

Antigen expression	CD274 +, CD197 +, EpCAM +, CD40 +, CD253 +, CD56 +, CD44 +, CD66acde +, CD50 -, CD58 -, CD178 -, CD86 -
---------------------------	---

Tumorigenic	Yeess, i immunsupprimerede nøgenmus
--------------------	-------------------------------------

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

Ploidy status	Aneuploid
----------------------	-----------

MSI-status	MSS
-------------------	-----

Mutational profile	APCmut, K-RasG12V, N-Raswt, H-Ras wt, p53wt, 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 NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820400a)
-----------------------	---

Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
--------------------	----------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Doubling time	25 til 40 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/cm ²
------------------------	--

Fluid renewal	Hver 3. til 5. dag
----------------------	--------------------

Post-Thaw Recovery	1 til 2 uger
---------------------------	--------------

HROC46 T0 M1-celler | 300824**Freeze medium**

Som kryopræservesmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende 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 °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 °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 x 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-kulturbolbe; 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°C, 5%_{CO2}, befugt atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tør is 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.

HROC46 T0 M1-celler | 300824

Shipping Conditions

Kryopræservede cellerlinjer 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 og molekylær analyse

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.