

## HROBMC01-celler | 300800

## Generel information

|                        |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b>     | Dette er en af en række cellelinjer for kolorektalt karcinom, som er blevet etableret af PD Dr. Michael Linnebacher siden 2006. Denne linje blev etableret fra en hjernemetastase af et primært kolorektalt karcinom.                                                                                                                                                        |
| <b>Organism</b>        | Menneske                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Tissue</b>          | Kolorektal                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Disease</b>         | Adenokarcinom                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Metastatic site</b> | Hjerne                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Applications</b>    | Forskning i hjernemetastaser ved kolorektal cancer; biologien bag metastaser fra kolorektal cancer til hjernen; modellering af PTEN-negativ kolorektal cancer; testning af lægemiddelfølsomhed; biologien bag hjernespecifikke metastaser ved kolorektal cancer; HROC-undersøgelser baseret på patientmatchede biobanker; mekanismerne bag metastaser i centralnervesystemet |

## Karakteristika

|                          |                 |
|--------------------------|-----------------|
| <b>Age</b>               | 60 år           |
| <b>Gender</b>            | Kvinde          |
| <b>Ethnicity</b>         | Kaukasisk       |
| <b>Morphology</b>        | Epitel-lignende |
| <b>Cell type</b>         | Epitelial       |
| <b>Growth properties</b> | Vedhæftende     |

## Regulatoriske data

|                        |                                        |
|------------------------|----------------------------------------|
| <b>Citation</b>        | HROBMC01 (Cytion katalognummer 300800) |
| <b>Biosafety level</b> | 1                                      |
| <b>NCBI_TaxID</b>      | 9606                                   |

## HROBMC01-celler | 300800

**CellosaurusAccession** CVCL\_1D08**GMO Status** Ingen genetisk modifikation; en vildtype-cellelinje fra en patient med hjerne-metastaser fra tyktarmskræft, etableret af PD Dr. Linnebacher

## Biomolekylære data

**Protein expression** PTEN-**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, 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 NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 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.**Split ratio** 1 til 3**Seeding density**  $1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Post-Thaw Recovery** Efter optøning skal cellerne udplades med  $5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 48 timer.

**HROBMC01-celler | 300800****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 tøris 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-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°C, 5%<sub>CO2</sub>, befugt atmosfære.

**Flask Coating**

Ingen

**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.

### HROBMC01-celler | 300800

#### 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 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.