

HROC24 T1 M1-celler | 300813**Generel information**

Description	Dette er en af en række tumorcellelinjer, som er blevet etableret af PD Dr. Michael Linnebacher fra PDTx (Patient-derived Tumor xenografts) siden 2006.
Organism	Menneske
Tissue	Colon, etableret fra en PDx (patientafledt xenotransplantation) af primært CRC-væv (Colon ascendens, UICC I, TNM-stadie T2N0M0R0L0V1 gradering G2). Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 13
Disease	Epitelial
Metastatic site	Ikke relevant (UICC-stadium I; TNM T2N0M0; ingen regional eller fjernmetastase)
Applications	Forskning i kolorektal kræft; modellering af MSI-H (mikrosatellit-ustabil) kolorektal kræft; biologi ved BRAF V600E-drevet kolorektal kræft; biologi ved kolorektal kræft i tidlige stadier; forudsigelse af respons på immunterapi; PDx-baseret forskning i kolorektal kræft; HROC-undersøgelser med patientmatchede biobankprøver
Synonyms	HROC24x

Karakteristika

Age	98 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Små celler i kolonier
Cell type	Epitheliale celler
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	HROC24 T1 M1 (Cytion katalognummer 300813)
Biosafety level	1

HROC24 T1 M1-celler | 300813**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1U80**GMO Status** Ingen genetisk modifikation; en MSI-H-CRC-cellelinje af vildtype, der stammer fra en patient, er etableret ud fra et patientafledt xenotransplantat af PD Dr. Linnebacher**Biomolekylære data****Tumorigenic** Yees, i immunsupprimerede nøgenmus**Viruses** Fri for humanpatogene vira SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.**Ploidy status** Euploid**MSI-status** MSI-H**Mutational profile** APCmut, p53wt, K-Raswt, N-Raswt, H-Ras wt, B-RAFV600E, PIK3CAwt**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** 20 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

HROC24 T1 M1-celler | 300813**Seeding density** 2×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Post-Thaw Recovery** Meget hurtig**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 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-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% CO₂, befugtet atmosfære.

HROC24 T1 M1-celler | 300813

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.

**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 cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.