

**HROC257 T0 M1-Zellen | 300815**

**Allgemeine Informationen**

<b>Description</b>	Dies ist eine Zelllinie aus einer Reihe von Tumorzelllinien, die seit 2006 von PD Dr. Michael Linnebacher aus primären Darmkrebsresektionspräparaten etabliert wurden.
<b>Organism</b>	Menschen
<b>Tissue</b>	Colon ascendens, UICC IV, hergestellt aus einem von einem Patienten stammenden Xenotransplantat von primärem CRC-Gewebe (Colon ascendens, TNM-Stadium T4N2Mx,R1L1V1 Grading G3, Lk(n) +8, ? Lk(n) 15).
<b>Disease</b>	Adenokarzinom
<b>Synonyms</b>	HROC257x

**Merkmale**

<b>Age</b>	84 Jahre
<b>Gender</b>	Weiblich
<b>Ethnicity</b>	Kaukasisch
<b>Morphology</b>	Epithelähnlich
<b>Growth properties</b>	Adhärent

**Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation**

<b>Citation</b>	HROC257 T0 M1 (Cytion Katalognummer 300815)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>Depositor</b>	M. Linnebacher

**Expression / Mutation**

<b>Protein expression</b>	PTEN
<b>Tumorigenic</b>	Ja, in immunsupprimierten Nacktmäusen

**HROC257 T0 M1-Zellen | 300815**

<b>Viruses</b>	Frei von humanpathogenen Viren SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.
----------------	--

<b>Ploidy status</b>	euploid
----------------------	---------

<b>Mutational profile</b>	K-Raswt, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafmut
---------------------------	---

**Handhabung**

<b>Culture Medium</b>	DMEM:Ham's F12, w: 3,1 g/L Glucose, w: 1,6 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO3 (Cytion-Artikelnummer 820400a)
-----------------------	--

<b>Medium supplements</b>	Supplemente des Mediums mit 10% FBS
---------------------------	-------------------------------------

<b>Passaging solution</b>	Accutase
---------------------------	----------

<b>Doubling time</b>	29 Stunden
----------------------	------------

<b>Subculturing</b>	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenen Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
---------------------	--

<b>Split ratio</b>	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:5 bis 1:10
--------------------	--

<b>Seeding density</b>	2 x 10 <sup>4</sup> Zellen/cm <sup>2</sup>
------------------------	--

<b>Fluid renewal</b>	Alle 3 bis 5 Tage
----------------------	-------------------

<b>Freezing recovery</b>	Schnell
--------------------------	---------

<b>Freeze medium</b>	CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)
----------------------	--

### HROC257 T0 M1-Zellen | 300815

#### Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle nachfolgenden Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Sie können die Zentrifugation auch überspringen, aber das restliche Gefriermedium nach 24 Stunden entfernen.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

### Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

#### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

**HROC257 T0 M1-Zellen | 300815**

---

**STR profile**

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 8,3,11  
**D13S317:** 8,10  
**D16S539:** 12  
**D5S818:** 12,13  
**D7S820:** 13  
**TH01:** 7,10  
**TPOX:** 8  
**vWA:** 17,18