

## Κύτταρα HROC39 T0 M2 | 300821

## Γενικές πληροφορίες

|                    |                                                                                                                                                                                             |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b> | Πρόκειται για μια κυτταρική σειρά από μια σειρά κυτταρικών σειρών όγκου που έχει δημιουργήσει ο PD Dr. Michael Linnebacher από δείγματα πρωτογενούς εκτομής CRC από το 2006.                |
| <b>Organism</b>    | Ανθρώπινο                                                                                                                                                                                   |
| <b>Tissue</b>      | Colon ascendens, UICC lib, Δημιουργήθηκε από ξενομόσχευμα πρωτογενούς ιστού CRC που προέρχεται από ασθενή (Colon ascendens, στάδιο TNM T4N0M0R0L0V1, διαβάθμιση G3, Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 34). |
| <b>Disease</b>     | Αδενοκαρκίνωμα                                                                                                                                                                              |
| <b>Synonyms</b>    | HROC39x                                                                                                                                                                                     |

## Χαρακτηριστικά

|                          |               |
|--------------------------|---------------|
| <b>Age</b>               | 69 χρόνια     |
| <b>Gender</b>            | Άντρας        |
| <b>Ethnicity</b>         | Κauκάσιος     |
| <b>Morphology</b>        | Επιθηλιοειδής |
| <b>Growth properties</b> | Προσκολλημένο |

## Ρυθμιστικά δεδομένα

|                             |                                                |
|-----------------------------|------------------------------------------------|
| <b>Citation</b>             | HROC39 T0 M2 (αριθμός καταλόγου Cytion 300821) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1                                              |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                           |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_1U82                                      |

## Βιομοριακά δεδομένα

|                           |      |
|---------------------------|------|
| <b>Protein expression</b> | PTEN |
|---------------------------|------|

## Κύτταρα HROC39 T0 M2 | 300821

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Antigen expression</b>   | Her2/neu +, EGFR +                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Tumorigenic</b>          | Ναι, σε ανοσοκατασταλμένα γυμνά ποντίκια                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Viruses</b>              | Χωρίς ανθρωπίνους παθογόνους ιούς SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| <b>Ploidy status</b>        | Ανευπλοειδές                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>MSI-status</b>           | MSS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Mutational profile</b>   | APCmut, K-Raswt, N-Ras wt, H-Raswt SNP rs12628 στο κωδικόνιο 27, B-Rafwt, p53 wt, PIK3CAwt                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Χειρισμός</b>            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Culture Medium</b>       | DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L γλυκόζη, w: 2,5 mM L-γλουταμίνη, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM πυρουβικό νάτριο, w: 1,2 g/L NaHCO <sub>3</sub> (αριθμός άρθρου Cytion 820400a)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>Supplements</b>          | Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Doubling time</b>        | 38 ώρες                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Subculturing</b>         | Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο. |
| <b>Seeding density</b>      | $2 \times 10^4$ κύτταρα/cm <sup>2</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>Fluid renewal</b>        | Κάθε 3 έως 5 ημέρες                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Post-Thaw Recovery</b>   | Λίγες ημέρες                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |

**Κύτταρα HROC39 T0 M2 | 300821****Freeze medium**

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των  $-150^{\circ}\text{C}$  για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο  $37^{\circ}\text{C}$  με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα  $300 \times g$  για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Flask Coating**

Κανένα

## Κύτταρα HROC39 T0 M2 | 300821

### Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των  $-78^{\circ}\text{C}$  καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

### Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου  $-150$  έως  $-196^{\circ}\text{C}$ . Η αποθήκευση στους  $-80^{\circ}\text{C}$  είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

## Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

### Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.