

HROC103 T0 M1 rakud | 300802

Üldine teave

Description	See on üks rakuliinide seeriast, mille PD Dr. Michael Linnebacher on alates 2006. aastast loonud PDTx (patsiendist saadud ksenotransplantaadist).
Organism	Inimene
Tissue	Kolorektaalne, loodud PDx (patsiendist saadud ksenotransplantaadist) primaarse CRC koest (Colon ascendens, TNM staadium T2N1M0R0L0V0, aste G2, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 23).
Disease	Adenokartsinoom
Metastatic site	Piirkondlike lümfisõlmede kaasatus (TNM N1; Lk(n)+2 23-st uuritud lümfisõlmest); kaugmetastaase puuduvad (M0)
Applications	Kolorektaalvähi uurimine; kolorektaalvähi bioloogia; PDx-põhiste rakuliinide uurimine; ravimite tundlikkuse ja sihtterapia hindamine; p53/KRAS-mutatsioonidega kolorektaalvähi modelleerimine; MSS-kolorektaalvähi immunoloogia; patsientidele sobivate HROC-biopankade uuringud
Synonyms	HROC103

Omadused

Age	44 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Väikesed rakud kolooniates
Cell type	Epiteel
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	HROC103 T0 M1 (Cytioni katalooginumber 300802)
Biosafety level	1

HROC103 T0 M1 rakud | 300802

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D10**GMO Status** Geneetilist modifitseerimist ei ole tehtud; PD dr Linnebacher on loonud patsiendilt pärineva loodusliku tüüpi kolorektaalvähi rakuliini, mis on saadud patsiendilt pärinevast ksenotransplantaadist.

Biomolekulaarsed andmed

Ploidy status Aneuploidne**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

Töötlemine

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükoosi, w: 2,5 mM L-glutamiini, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM naatriumpüruvaati, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytioni artikli number 820400a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Split ratio** 1-3**Seeding density** 2×10^4 rakku/cm²**Fluid renewal** Iga 3 kuni 5 päeva tagant

HROC103 T0 M1 rakud | 300802**Post-Thaw Recovery**

Mõned päevad

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.**Flask Coating**

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HROC103 T0 M1 rakud | 300802

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.