

HROC24 T1 M1 rakud | 300813

Üldine teave

Description	Tegemist on ühega kasvajarakkude liinide seeriast, mille PD Dr. Michael Linnebacher on alates 2006. aastast loonud PDTx-ist (patsiendist saadud kasvajate ksenotransplantaadid).
Organism	Inimene
Tissue	Colon, loodud PDx (patsiendist saadud ksenotransplantaadist) primaarse CRC koest (Colon ascendens, UICC I, TNM staadium T2N0M0R0L0V1 gradiatsioon G2). Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 13
Disease	Epiteel
Metastatic site	Ei kohaldata (UICC I staadium; TNM T2N0M0; puuduvad piirkondlikud või kaugmetastaasid)
Applications	Kolorektaalvähi uurimine; MSI-H (mikrosatelliitide ebastabiilsusega) kolorektaalvähi modelleerimine; BRAF V600E-st tingitud kolorektaalvähi bioloogia; varajases staadiumis kolorektaalvähi bioloogia; immunoteraapia ravivastuse prognoosimine; PDx-põhine kolorektaalvähi uurimine; HROC-patsientidele sobivate biopankade uuringud
Synonyms	HROC24x

Omadused

Age	98 aastat
Gender	Mees
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Väikesed rakud kolooniates
Cell type	Epiteelirakud
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	HROC24 T1 M1 (Cytioni katalooginumber 300813)
Biosafety level	1

HROC24 T1 M1 rakud | 300813

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U80

GMO Status Geneetilisest modifitseerimisest ei ole toimunud; PD dr Linnebacher on loonud patsiendilt pärinevast ksenotransplantaadist loodusliku tüüpi, patsiendilt pärineva MSI-H-tüüpi kolorektaalvähi rakuliini

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Jah, immuunsupressiooniga alasti hiirtel

Viruses Vabad inimpatogeensetest viirustest 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

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 20 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

HROC24 T1 M1 rakud | 300813

Seeding density 2×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal Iga 3 kuni 5 päeva tagant

Post-Thaw Recovery Väga kiire

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 °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 °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. Adhereeruvate 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% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating Puudub

HROC24 T1 M1 rakud | 300813

Freezing Procedure

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.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility

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

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