

HROC32 T3 M1 rakud | 300819

Üldine teave

Description	Tegemist on ühe rakuliiniga kasvajakude seeriast, mille PD Dr. Michael Linnebacher on alates 2006. aastast loonud primaarse CRC reseksiooniproovidest. See rakuliin on saadud HROC32 hilisstaadiumis olevast kasvajast.
Organism	Inimene
Tissue	Colon ascendens, UICC IV, Kehtestatud patsiendist saadud ksenotransplantaadist saadud primaarsest CRC koest (Colon ascendens, TNM staadium T4N2M1R0L0V1 gradiatsioon G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14)
Disease	Adenokartsinoom
Metastatic site	Kaugmetastaasid (UICC IV staadium; TNM T4N2M1; konkreetne kaugmetastaasi asukoht pole dokumenteeritud)
Applications	Kolorektaalvähi uurimine; hilisstaadiumis kolorektaalvähi modelleerimine; PTEN-negatiivse kolorektaalvähi bioloogia; kemoterapia ja sihtterapia hindamine; kolorektaalvähi immunoloogia; patsientidelt saadud ksenotransplantaatide uuringud
Synonyms	HROC32x

Omadused

Age	82 aastat
Gender	Naised
Ethnicity	Kaukaasia
Morphology	Epiteelilaadsed
Cell type	Epiteelirakud
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	HROC32 T3 M1 (Cytioni katalooginumber 300819)
Biosafety level	1

HROC32 T3 M1 rakud | 300819

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D07**GMO Status** Geneetilist modifitseerimist ei ole toimunud; PD dr Linnebacher on loonud patsiendilt pärineva loodusliku tüüpi kolorektaalvähi rakuliini

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression PTEN**Antigen expression** CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86-, EpCAM +, HLA-A2 +**Tumorigenic** Jah, immuunsupressiooniga alasti hiirtel**Viruses** Vabad inimpatogeensetest viirustest SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.**Ploidy status** Aneuploidne**MSI-status** MSS**Mutational profile** APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 koodonis 27, PIK3CAst, BRafwt

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

HROC32 T3 M1 rakud | 300819

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt 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

Post-Thaw Recovery 1 kuni 2 nädalat

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.

HROC32 T3 M1 rakud | 300819**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 viali 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 viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ 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**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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.

**Shipping
Conditions**

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.

HROC32 T3 M1 rakud | 300819

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 luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

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