

HROC32-kennot | 300818

Yleisiä tietoja

Description	Tämä on yksi solulinja kasvainsolulinjojen sarjassa, jonka PD Dr. Michael Linnebacher on perustanut primaarisen CRC:n resektionäytteistä vuodesta 2006 lähtien.
Organism	Ihminen
Tissue	Colon ascendens, UICC IV
Disease	Primaarinen adenokarsinooma, TNM-vaihe T4N2M1R0L0V1 luokitus G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14
Synonyms	HROC32P

Ominaisuudet

Age	82 vuotta
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Citation	HROC32 (Cytionin luettelonumero 300818)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1D06

Biomolekyylitiedot

Protein expression	PTEN
---------------------------	------

HROC32-kennot | 300818

Antigen expression CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86 -, EpCAM +, HLA-A2 +, MHC I +, MHC II + (IFN-g esikäsitelty), Her2/neu +

Tumorigenic Kyllä, immuunipuutteisilla alastomilla hiirillä -

Viruses Ei sisällä ihmisen patogeenisia viruksia SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

MSI-status MSS

Mutational profile APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 kodonissa 27, PIK3CAst, BRAfwt

Käsittely

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoosia, w: 2,5 mM L-glutamiinia, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvaattia, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820400a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 30 tuntia

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 2×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 3-5 päivän välein

Post-Thaw Recovery 1 - 2 viikkoa

HROC32-kennot | 300818

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäätä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HROC32-kennot | 300818**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi**Sterility**

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

A*: '01:01, '02:01

B*: '08:01, '51:01:00

C*: '07:01, '14:02

DRB1*: '03:01, '11:01

DQA1*: '01:02:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01, '03:01

DPB1*: '01:01:01, '02:01:02

E: '01:01, '01:03