

## HROC284Met-solut | 300816

## Yleisiä tietoja

|                        |                                                                                                                                                                 |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Description</b>     | Tämä on yksi solulinja kasvainsolulinjojen sarjassa, jonka PD Dr. Michael Linnebacher on perustanut primaarisen CRC:n resektionäytteistä vuodesta 2006 lähtien. |
| <b>Organism</b>        | Ihminen                                                                                                                                                         |
| <b>Tissue</b>          | Maksan etäpesäke                                                                                                                                                |
| <b>Disease</b>         | Adenokarsinooma                                                                                                                                                 |
| <b>Metastatic site</b> | Maksa, primaarisen CRC-kudoksen etäpesäke (paksusuolen peräsuoli)                                                                                               |

## Ominaisuudet

|                          |                     |
|--------------------------|---------------------|
| <b>Age</b>               | 67 vuotta           |
| <b>Gender</b>            | Nainen              |
| <b>Ethnicity</b>         | Kaukasialainen      |
| <b>Morphology</b>        | Epiteelin kaltainen |
| <b>Growth properties</b> | Tarttuva            |

## Säätelytiedot

|                             |                                         |
|-----------------------------|-----------------------------------------|
| <b>Citation</b>             | HROC284Met1 (Cytion-tuotenumero 300816) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1                                       |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                    |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_1U91                               |

## Biomolekyylitiedot

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

**HROC284Met-solut | 300816**

|                           |                                                                      |
|---------------------------|----------------------------------------------------------------------|
| <b>Tumorigenic</b>        | Kyllä, immuunipuutteisilla alastomilla hiirillä -                    |
| <b>Viruses</b>            | Ei sisällä ihmisen patogeenisiä viruksia SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV. |
| <b>MSI-status</b>         | MSS                                                                  |
| <b>Mutational profile</b> | K-Rasmut, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt                        |

**Käsittely**

|                             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Culture Medium</b>       | 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)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>Supplements</b>          | Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Dissociation Reagent</b> | Trypsiini/EDTA; jos tämä ei riitä, käytä solunkaavinta                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Doubling time</b>        | 29 tuntia                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Subculturing</b>         | 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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita. |
| <b>Seeding density</b>      | $2 \times 10^4$ solua/cm <sup>2</sup>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Fluid renewal</b>        | 3-5 päivän välein                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Post-Thaw Recovery</b>   | Muutama päivä                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <b>Freeze medium</b>        | Kryosäilytysmediaan käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |

## HROC284Met-solut | 300816

### Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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 %  $\text{CO}_2$ , kostutettu ilmakehä.

### Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

### 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.

## HROC284Met-solut | 300816

### Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäissä 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 / Geneettinen profiili / HLA

### Sterility

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

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