

HROC24 T1 M1-solut | 300813

Yleisiä tietoja

Description	Tämä on yksi kasvainsolulinjojen sarjasta, jonka PD Dr. Michael Linnebacher on perustanut PDTx:stä (potilasperäiset kasvainksenograftit) vuodesta 2006 lähtien.
Organism	Ihminen
Tissue	Paksusuoli, PDx (potilasperäinen ksenotransplantaatti) primaarisesta CRC-kudoksesta (Colon ascendens, UICC I, TNM-vaihe T2N0M0R0L0V1, luokitus G2). Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 13
Disease	Epiteeli
Metastatic site	Ei sovelleta (UICC-vaihe I; TNM T2N0M0; ei alueellisia tai etämetastaaseja)
Applications	Paksusuolisyövän tutkimus; MSI-H (mikrosatelliittien epävakaas) -paksusuolisyövän mallintaminen; BRAF V600E -mutaatioon perustuva paksusuolisyövän biologia; varhaisvaiheen paksusuolisyövän biologia; immunoterapian vasteen ennustaminen; PDx-pohjainen paksusuolisyövän tutkimus; HROC-potilaisiin sovitettut biopankkitutkimukset
Synonyms	HROC24x

Ominaisuudet

Age	98 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Pienet solut pesäkkeissä
Cell type	Epiteelisolut
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Citation	HROC24 T1 M1 (Cytionin luettelonumero 300813)
Biosafety level	1

HROC24 T1 M1-solut | 300813

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U80

GMO Status Ei geenimuunnoksia; PD Dr. Linnebacherin potilaasta peräisin olevasta ksenotransplantaatista perustettu villityyppinen, potilaasta peräisin oleva MSI-H-paksusuolisyöpäsolulinja

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic Kyllä, immuunipuutteisilla alastomilla hiirillä -

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

Ploidy status Euploidi

MSI-status MSI-H

Mutational profile APCmut, p53wt, K-Raswt, N-Raswt, H-Ras wt , B-RAFV600E, PIK3CAwt

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 20 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 väliainetta.

Split ratio 1-3

HROC24 T1 M1-solut | 300813

Seeding density 2×10^4 solua/cm²

Fluid renewal 3-5 päivän välein

Post-Thaw Recovery Erittäin nopea

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 kuivajäädessä, 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 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

HROC24 T1 M1-solut | 300813

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

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.

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 ja molekyylianalyysi

Sterility

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

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