

Cellules HROBMC01 | 300800

Informations générales

Description	Cette lignée fait partie d'une série de lignées cellulaires de carcinome colorectal établies par le Dr Michael Linnebacher depuis 2006. Cette lignée a été créée à partir d'une métastase cérébrale d'un carcinome colorectal primaire.
--------------------	---

Organism	Humain
-----------------	--------

Tissue	Colorectal
---------------	------------

Disease	Adénocarcinome
----------------	----------------

Metastatic site	Cerveau
------------------------	---------

Applications	Recherche sur les métastases cérébrales du cancer colorectal ; biologie des métastases cérébrales du cancer colorectal ; modélisation du cancer colorectal PTEN-négatif ; tests de sensibilité aux médicaments ; biologie des métastases cérébrales spécifiques du cancer colorectal ; études sur des biobanques associées à des patients HROC ; mécanismes des métastases au niveau du SNC
---------------------	---

Caractéristiques

Age	60 ans
------------	--------

Gender	Femme
---------------	-------

Ethnicity	Caucasien
------------------	-----------

Morphology	De type épithélial
-------------------	--------------------

Cell type	Épithéliale
------------------	-------------

Growth properties	Adhérent
--------------------------	----------

Données réglementaires

Citation	HROBMC01 (numéro de catalogue Cytion 300800)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

Cellules HROBMC01 | 300800

CellosaurusAccession CVCL_1D08**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Sans modification génétique ; lignée cellulaire de métastases cérébrales issues d'un cancer colorectal (CCR) de type sauvage, établie par le Dr Linnebacher

Données biomoléculaires

Protein expression PTEN-**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

Manipulation

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w : 3.1 g/L Glucose, w : 2.5 mM L-Glutamine, w : 15 mM HEPES, w : 0.5 mM Sodium pyruvate, w : 1.2 g/L NaHCO₃ (numéro d'article Cytion 820400a)**Supplements** Compléter le milieu avec 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 heures**Subculturing** Retirer l'ancien milieu des cellules adhérentes et les laver avec du PBS dépourvu de calcium et de magnésium. Pour les flacons T25, utiliser 3-5 ml de PBS, et pour les flacons T75, 5-10 ml. Ensuite, recouvrir complètement les cellules avec Accutase, en utilisant 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. Laisser les cellules incuber à température ambiante pendant 8-10 minutes pour les détacher. Après incubation, mélanger délicatement les cellules avec 10 ml de milieu pour les remettre en suspension, puis centrifuger à 300xg pendant 3 minutes. Jeter le surnageant, remettre les cellules en suspension dans du milieu frais et les transférer dans de nouveaux flacons contenant déjà du milieu frais.**Split ratio** 1 à 3**Seeding density** 1×10^4 cellules/cm²**Fluid renewal** Tous les 3 à 5 jours

Cellules HROBMC01 | 300800

Post-Thaw Recovery

Après décongélation, ensemer les cellules à raison de 5×10^4 cellules/cm² et laisser les cellules se remettre du processus de congélation et adhérer pendant au moins 48 heures.

Freeze medium

Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Cellules HROBMC01 | 300800**Freezing
Procedure**

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Shipping
Conditions**

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

**Storage
Conditions**

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire**Sterility**

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil STR

Amelogenin: x (patient de sexe masculin, Y perdu)

CSF1PO: 10,3

D13S317: 12

D16S539: 11

D5S818: 9,13

D7S820: 8,9,11

TH01: 7,9,3

TPOX: 8,10

vWA: 18,19

D21S11: 29,32.2