

HROC40 sejtek | 300822

Általános információk

Description	Ez az egyik sejtvonal egy olyan tumorsejtvonal-sorozatból, amelyet Dr. Michael Linnebacher PD 2006 óta hoz létre primer CRC reszekciós mintákból.
Organism	Emberi
Tissue	Colon descendens, UICC IIIa
Disease	Primer adenokarcinóma, TNM stádium T3N1M0R0L1V1, osztályozás G3, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 18

Jellemzők

Age	69 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	HROC40 (Cytion katalógusszám 300822)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1G01

Biomolekuláris adatok

Protein expression	Béta-aktin, osteopontin alacsony, Toll-szerű receptor (TLR) 3 mérsékelt, TLR4 mérsékelt, TLR7 alacsony, TLR8 -, PTEN
Antigen expression	CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73+, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133-, CD66acdeweak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIweak IFN-γ kezelés után, EpCAM+

HROC40 sejtek | 300822

Tumorigenic	Igen, immunszupprimált meztelen egerekben
Víruses	Mentes az SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV humán patogén vírusoktól.
Ploidy status	Aneuploid
MSI-status	MSS
Mutational profile	P53G266e, APCwt, K-RasG13D, mt13, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

A kezelése

Culture Medium	DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glükóz, w: 2,5 mM L-Glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nátrium-piruvát, w: 1,2 g/L NaHCO ₃ (Cytion 820400a cikkszám)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Felolvasztás után óvatosan szuszpendálja újra a sejt pelletet. Centrifugáljuk 300 x g-n 3 percig, és dobjuk el a felülúszót. Ültessük be 2x 25 cm ² -es sejtenyésző lombikokba, és hagyjuk a lombikokat 48 órán át az inkubátorban. 2-3 naponként cserélje ki az elhasznált tápfolyadékot, amíg el nem éri a 80-90%-os konfluenciát. Ez nagyjából 10-14 napot vesz igénybe.
Seeding density	5x10 ⁴ sejt/cm ² felolvasztás után, 3x10 ⁴ sejt/cm ² , miután a sejtek erőteljesen szaporodnak
Fluid renewal	3-5 naponta
Post-Thaw Recovery	Gyors
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HROC40 sejtek | 300822

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HROC40 sejtek | 300822

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakot szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ közötti hőmérsékleten. A $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.