

HROC24 T1 M1 sejtek | 300813

Általános információk

Description	Ez egyike a PD Dr. Michael Linnebacher által 2006 óta a PDTx-ből (betegektől származó tumor xenotranszplantátumok) létrehozott tumorsejtvonalak sorozatának.
Organism	Emberi
Tissue	Vastagbél, PDx (betegből származó xenograft) primer CRC-szövetből (Colon ascendens, UICC I, TNM-stádium T2N0M0R0L0V1, G2 besorolás). Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 13
Disease	Epithelialis
Metastatic site	Nem alkalmazandó (UICC I. stádium; TNM T2N0M0; nincs regionális vagy távoli áttét)
Applications	Vastagbélrák-kutatás; MSI-H (mikroszatellit-instabil) vastagbélrák modellezése; a BRAF V600E mutáció által vezérelt vastagbélrák biológiája; a korai stádiumú vastagbélrák biológiája; az immunterápiára adott válasz előrejelzése; PDx-alapú vastagbélrák-kutatás; HROC-alapú, betegekhez illesztett biobank-vizsgálatok
Synonyms	HROC24x

Jellemzők

Age	98 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Kis sejtek kolóniákban
Cell type	Epithel sejtek
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	HROC24 T1 M1 (Cytion katalógusszám: 300813)
Biosafety level	1

HROC24 T1 M1 sejtek | 300813

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U80

GMO Status Nincs genetikai módosítás; PD Dr. Linnebacher által egy betegből származó xenograftból létrehozott, vad típusú, betegből származó MSI-H vastagbélrák-sejtvonal

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic Igen, immunszupprimált meztelen egerekben

Viruses Mentés az SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV humán patogén vírusoktól.

Ploidy status Euploid

MSI-status MSI-H

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

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 NaHCO₃ (Cytion 820400a cikkszám)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 óra

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékkal, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1-3

HROC24 T1 M1 sejtek | 300813**Seeding density** 2×10^4 sej_t/cm²**Fluid renewal** 3-5 naponta**Post-Thaw Recovery** Nagyon gyors**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás 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.**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 °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 °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 fertőtlenítjük a krioüvegét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtet 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 sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.

HROC24 T1 M1 sejtek | 300813

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°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°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.