

HROC24 T1 M1 šūnas | 300813

Vispārīga informācija

Description	Šī ir viena no virknes audzēju šūnu līniju, ko kopš 2006. gada ir izveidojis PD Dr. Michael Linnebacher no PDTx (pacientu audzēju ksenogrāfts).
Organism	Cilvēks
Tissue	Resnās zarnas, izveidots no PDx (pacienta radīta ksenotransplantāta) primāro CRC audu (Colon ascendens, UICC I, TNM stadija T2N0M0R0L0V1, grading G2). Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 13
Disease	Epitēlija
Metastatic site	Neattiecas (UICC I stadija; TNM T2N0M0; nav reģionālo vai attālo metastāžu)
Applications	Kolorektālā vēža pētījumi; MSI-H (mikrosatelītu nestabilitāte) kolorektālā vēža modelēšana; BRAF V600E mutācijas izraisītā kolorektālā vēža bioloģija; agrīnās stadijas kolorektālā vēža bioloģija; imūnterapijas reakcijas prognozēšana; uz PDx balstīti kolorektālā vēža pētījumi; HROC pētījumi, izmantojot pacientam atbilstošu biobanku
Synonyms	HROC24x

Raksturojums

Age	98 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Mazas šūnas kolonijās
Cell type	Epitēlija šūnas
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	HROC24 T1 M1 (Cytion kataloga numurs 300813)
Biosafety level	1

HROC24 T1 M1 šūnas | 300813

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U80

GMO Status Nav ģenētiski modificēta; PD Dr. Linnebacher izveidojis no pacienta iegūtu savvaļas tipa MSI-H kolorektālā vēža šūnu līniju, izmantojot no pacienta iegūtu ksenotransplantātu

Biomolekulārie dati

Tumorigenic Jā, imunitāti nomācošām kailām pelēm

Viruses Nesatur cilvēka patogēnos vīrusus SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

Ploidy status Euploīds

MSI-status MSI-H

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

Darbs ar

Culture Medium DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glikozes, w: 2,5 mM L-glutamīna, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM nātrija piruvāta, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820400a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 20 stundas

Subculturing Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiēt šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Split ratio no 1 līdz 3

HROC24 T1 M1 šūnas | 300813

Seeding density 2×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal Ik pēc 3 līdz 5 dienām

Post-Thaw Recovery Ļoti ātri

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsāt vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

HROC24 T1 M1 šūnas | 300813**Flask Coating**

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.