

HROC32 T3 M1 šūnas | 300819

Vispārīga informācija

Description	Šī ir viena no šūnu līnijām, kas ietilpst audzēja šūnu līniju sērijā, ko kopš 2006. gada no primārās CRC rezekcijas paraugiem izveidojis Dr. Michael Linnebacher. Šī šūnu līnija tika iegūta no HROC32 audzēja vēlīnā stadijā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Colon ascendens, UICC IV, Izveidots no pacienta iegūtiem ksenotransplantātiem primārajiem CRC audiem (Colon ascendens, TNM stadija T4N2M1R0L0V1 klasifikācija G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14)
Disease	Adenokarcinoma
Metastatic site	Tālās metastāzes (UICC IV stadija; TNM T4N2M1; konkrēta tālās metastāzes vieta nav dokumentēta)
Applications	Kolorektālā vēža pētījumi; vēlīnā stadijā esoša kolorektālā vēža modelēšana; PTEN-negatīvā kolorektālā vēža bioloģija; ķīmijterapijas un mērķtiecīgās terapijas novērtēšana; kolorektālā vēža imunoloģija; pētījumi ar pacientiem iegūtiem ksenotransplantātiem
Synonyms	HROC32x

Raksturojums

Age	82 gadi
Gender	Sievietes
Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	Epitēlijveidīgs
Cell type	Epitēlija šūnas
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	HROC32 T3 M1 (Cytion kataloga numurs 300819)
Biosafety level	1

HROC32 T3 M1 šūnas | 300819

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D07**GMO Status** Nav ģenētiski modificēta; PD Dr. Linnebacher izveidota no pacienta iegūta savvaļas tipa kolorektālā vēža šūnu līnija**Biomolekulārie dati****Protein expression** PTEN**Antigen expression** CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86-, EpCAM +, HLA-A2 +**Tumorigenic** Jā, imunitāti nomācošām kailām pelēm**Viruses** Nesatur cilvēka patogēnos vīrusus SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.**Ploidy status** Aneuploīds**MSI-status** MSS**Mutational profile** APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 kodonā 27, PIK3CAst, BRafwt**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** 30 stundas

HROC32 T3 M1 šūnas | 300819

Subculturing Noņemt 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 pārklājiet 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

Seeding density 2×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal Ik pēc 3 līdz 5 dienām

Post-Thaw Recovery 1 līdz 2 nedēļas

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.

HROC32 T3 M1 šūnas | 300819

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 pārnesiet 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 pārnest 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% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

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

HROC32 T3 M1 šūnas | 300819

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums 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 starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

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

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