

HROC40 Cellen | 300822

Algemene informatie

Description	Dit is één cellijn uit een serie tumorcellijnen die sinds 2006 door PD Dr. Michael Linnebacher zijn gemaakt van primaire CRC-resectie monsters.
Organism	Mens
Tissue	Afdalende dikke darm, UICC IIIa
Disease	Primair adenocarcinoom, TNM-stadium T3N1M0R0L1V1, gradering G3, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 18

Kenmerken

Age	69 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epitheelachtig
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HROC40 (Cytion catalogusnummer 300822)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellSaurusAccession	CVCL_1G01
Depositor	M. Linnebacher

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	Beta-actine, osteopontine laag, Toll-like receptor (TLR) 3 matig, TLR4 matig, TLR7 laag, TLR8 -, PTEN
---------------------------	---

HROC40 Cellen | 300822

Antigen expression CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73+, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133- , CD66acdezwak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIzwak na IFN- γ behandeling, EpCAM+

Tumorigenic Ja, in immuun-onderdrukte naakte muizen

Viruses Vrij van menselijke pathogene virussen SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

Ploidy status Aneuploïde

MSI-status MSS

Mutational profile P53G266e, APCwt, K-RasG13D, mt13, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt

Omgaan met

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 Natriumpyruvaat, w: 1,2 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820400a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Na het ontdoeien de celpellet voorzichtig resuspenderen. Centrifugeer bij 300 x g gedurende 3 minuten en gooi het supernatant weg. Zaai in 2x 25cm² celweekflesjes en laat de flesjes 48 uur in de incubator staan. Vervang het gebruikte medium om de 2-3 dagen, totdat 80-90% confluentie is bereikt. Dit duurt ongeveer 10-14 dagen.

Split ratio Een verhouding van 1:4 tot 1:8 wordt aanbevolen

Seeding density 5x10⁴ cellen/cm² na ontdoeien, 3x10⁴ cellen/cm² zodra de cellen zich krachtig vermenigvuldigen

Fluid renewal Om de 3 tot 5 dagen

Post-Thaw Recovery Snel

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdoeien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HROC40 Cellen | 300822

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Voor een optimale hechting en levensvatbaarheid na het ontdooien raden we aan **met collageen gecoate kolven of platen** te gebruiken.

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HROC40 Cellen | 300822

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x (Patiënt mannelijk, Y verloren)

CSF1PO: 10

D13S317: 11,12

D16S539: 10,11

D5S818: 11,13

D7S820: 11

TH01: 8,9

TPOX: 8

vWA: 15,17

D21S11: 30