

## HROC374 Cellen | 300852

## 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** Colon, sigmoid, ascendens

**Disease** Primair adenocarcinoom, TNM-stadium T3N2bM0G3R0L0V1

## Kenmerken

**Age** 64 jaar

**Gender** Mannelijk

**Ethnicity** Kaukasisch

**Morphology** Epitheelachtig

**Growth properties** Aanhangend

## Regelgevende gegevens

**Citation** HROC374 (Cytion catalogusnummer 300852)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_VQ98

**Depositor** M. Linnebacher

## Biomoleculaire gegevens

**Tumorigenic** Ja, in immuun-onderdrukte naakte muizen

**HROC374 Cellen | 300852**

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

**MSI-status** MSS

**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 NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikelnummer 820400a)

**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenderen en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

**Split ratio** Een verhouding van 1:3 tot 1:6 wordt aanbevolen

**Seeding density**  $2 \times 10^4$  cellen/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Om de 3 tot 5 dagen

**Post-Thaw Recovery** Enkele dagen

**Freeze medium** Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, 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.

## HROC374 Cellen | 300852

### 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%  $\text{CO}_2$ , 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.

## HROC374 Cellen | 300852

### 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.