

HROBMC01 Cellen | 300800**Algemene informatie**

Description Dit is een van een serie cellijnen voor colorectaal carcinoom die sinds 2006 zijn opgezet door PD Dr. Michael Linnebacher. Deze lijn is ontstaan uit een hersenmetastase van een primair colorectaal carcinoom.

Organism Mens

Tissue Colorectaal

Disease Adenocarcinoom

Metastatic site Hersenen

Applications Onderzoek naar hersenmetastasen bij colorectale kanker; biologie van metastasen van colorectale kanker naar de hersenen; modellering van PTEN-negatieve colorectale kanker; testen op gevoeligheid voor geneesmiddelen; biologie van hersenspecifieke metastatische colorectale kanker; HROC-onderzoeken met op patiënten afgestemde biobanken; mechanismen van metastasen in het centrale zenuwstelsel

Kenmerken

Age 60 jaar

Gender Vrouw

Ethnicity Kaukasisch

Morphology Epitheelachtig

Cell type Epitheel

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HROBMC01 (Cytion catalogusnummer 300800)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

HROBMC01 Cellen | 300800**CellosaurusAccession** CVCL_1D08**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Geen genetische modificatie; door PD Dr. Linnebacher opgezette wildtype-celijn van hersenmetastasen bij colorectale kanker, afkomstig van een patiënt**Biomoleculaire gegevens****Protein expression** PTEN-**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, 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**Doubling time** 30 uur**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** 1 tot en met 3**Seeding density** 1×10^4 cellen/cm²**Fluid renewal** Om de 3 tot 5 dagen

HROBMC01 Cellen | 300800

Post-Thaw Recovery

Na ontdooien, zaai de cellen uit op 5×10^4 cellen/cm² en laat de cellen minstens 48 uur herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimeidium (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.

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 °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 °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 x 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°C, 5% CO₂, bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

HROBMC01 Cellen | 300800

Freezing Procedure

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.

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 en moleculaire analyse

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: 10,3

D13S317: 12

D16S539: 11

D5S818: 9,13

D7S820: 8,9,11

TH01: 7,9,3

TPOX: 8,10

vWA: 18,19

D21S11: 29,32.2