

## HROC309 Celler | 300837

## Generell informasjon

|                    |  |
|--------------------|--|
| <b>Description</b> | Dette er én cellelinje i en serie av tumorcellelinjer som PD Dr. Michael Linnebacher har etablert fra primære CRC-reseksjonspreparater siden 2006. |
| <b>Organism</b>    | Menneskelig  |
| <b>Tissue</b>      | Kolorektal   |
| <b>Disease</b>     | Primært adenokarsinom, TNM-stadium T3N0M0R0L0V1 gradering G2, Lk(n) +0, Σ Lk(n) 23   |

## Kjennetegn

|                          |                 |
|--------------------------|-----------------|
| <b>Age</b>               | 86 år           |
| <b>Gender</b>            | Mann            |
| <b>Ethnicity</b>         | Kaukasisk       |
| <b>Morphology</b>        | Epitel-lignende |
| <b>Growth properties</b> | Vedhengende     |

## Regulatoriske data

|                             |                                       |
|-----------------------------|---------------------------------------|
| <b>Citation</b>             | HROC309 (Cytion-katalognummer 300837) |
| <b>Biosafety level</b>      | 1                                     |
| <b>NCBI_TaxID</b>           | 9606                                  |
| <b>CellosaurusAccession</b> | CVCL_1U95                             |
| <b>Depositor</b>            | M. Linnebacher                        |

## Biomolekylære data

|                    |                                  |
|--------------------|----------------------------------|
| <b>Tumorigenic</b> | Ja, i immunsupprimerte nakne mus |
|--------------------|----------------------------------|

**HROC309 Celler | 300837****Viruses** Fri for humanpatogene virus SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.**MSI-status** MSS**Håndtering****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukose, w: 2,5 mM L-glutamin, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natriumpyruvat, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion artikkelnummer 820400a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 timer**Subculturing** Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** Et forhold på 1:3 til 1:5 anbefales**Seeding density**  $2 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Post-Thaw Recovery** 1 til 2 uker**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## HROC309 Celler | 300837

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## HROC309 Celler | 300837

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 11,12  
**D13S317:** 11,12  
**D16S539:** 11  
**D5S818:** 10  
**D7S820:** 9,11  
**TH01:** 9  
**TPOX:** 8,9  
**vWA:** 18,19  
**D3S1358:** 15  
**D21S11:** 29,32.2  
**D18S51:** 12  
**Penta E:** 16  
**Penta D:** 9,10  
**D8S1179:** 11,13  
**FGA:** 19,20