

HROC383 Celler | 300873

Generell informasjon

Description	Dette er én cellelinje i en serie av tumorcellelinjer som PD Dr. Michael Linnebacher har etablert fra primære CRC-reseksjonspreparater siden 2006.
Organism	Menneskelig
Tissue	Colon transversum
Disease	Primært adenokarsinom, TNM-stadium T3N0M0R0L0V0, gradering G3, Lk(n) + 0, Σ Lk(n) 39

Kjennetegn

Age	83 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	HROC383 (Cytion-katalognummer 300873)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_VQ99
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylære data

Tumorigenic	Ja, i immunsupprimerte nakne mus
--------------------	----------------------------------

HROC383 Celler | 300873

Viruses Fri for humanpatogene virus SV40, JC/BK, HBV, HCV, HIV.

MSI-status MSI-H

Mutational profile BRAF-mutasjon

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 NaHCO₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

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 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery 2 til 4 dager

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 osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

HROC383 Celler | 300873

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst 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 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

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.

HROC383 Celler | 300873

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
D13S317: 14
D16S539: 9,11
D5S818: 11,12
D7S820: 10,13
TH01: 9.3
TPOX: 8,11
D3S1358: 16,18
D21S11: 28
D18S51: 13,17
Penta E: 7,9
Penta D: 11

HLA-alleler

A*: '02:01:01
B*: '07:XX, '15:01:01
C*: '03:03:01, '07:02:01
DRB1*: '04:04:01, '14:54:01
DQA1*: '01:04:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '05:03:01
DPB1*: '04:01:01G, '06:01:01G
E: '01:01:01, '01:03:02