

HROC103 T0 M1 Celler | 300802**Generell informasjon**

Description	Dette er en av en serie cellelinjer som PD Dr. Michael Linnebacher har etablert fra et PDTx (pasientavledet tumor-xenotransplantat) siden 2006.
Organism	Menneskelig
Tissue	Kolorektal, etablert fra en PDx (pasientderivert xenotransplantat) av primært CRC-vev (Colon ascendens, TNM-stadium T2N1M0R0L0V0, grad G2, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 23).
Disease	Adenokarsinom
Metastatic site	Involvering av regionale lymfeknuter (TNM N1; Lk(n)+2 av 23 undersøkte); ingen fjernmetastaser (M0)
Applications	Forskning på tykktarmskreft; biologi ved tykktarmskreft; forskning på cellelinjer avledet fra PDx; evaluering av legemiddelfølsomhet og målrettet behandling; modellering av tykktarmskreft med p53/KRAS-mutasjoner; immunologi ved MSS-tykktarmskreft; biobankstudier med pasienttilpassede HROC-prøver
Synonyms	HROC103

Kjennetegn

Age	44 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Små celler i kolonier
Cell type	Epitelial
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	HROC103 T0 M1 (Cytion-katalognummer 300802)
Biosafety level	1

HROC103 T0 M1 Celler | 300802**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D10**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Ingen genetisk modifisering; en villtype-CRC-cellelinje avledet fra en pasient, etablert fra et pasientavledet xenotransplantat av PD Dr. Linnebacher**Biomolekylære data****Ploidy status** Aneuploid**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt**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**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** 1 til 3**Seeding density** 2×10^4 celler/cm²

HROC103 T0 M1 Celler | 300802**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag**Post-Thaw Recovery** Noen få dager**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter optiming, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.**Thawing and Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst 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

HROC103 T0 M1 Celler | 300802

Freezing Procedure

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

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 (Pasient mann, Y tapt)

CSF1PO: 12

D13S317: 11,12

D16S539: 12,13

D5S818: 12,13

D7S820: 9

TH01: 6,9

TPOX: 8

vWA: 14,15