

HROC40-celler | 300822

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 descendens, UICC IIIa
Disease	Primært adenokarsinom, TNM-stadium T3N1M0R0L1V1, gradering G3, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 18

Kjennetegn

Age	69 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	HROC40 (Cytion-katalognummer 300822)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1G01
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylære data

Protein expression	Beta-aktin, osteopontin lav, Toll-lignende reseptor (TLR) 3 moderat, TLR4 moderat, TLR7 lav, TLR8 -, PTEN
---------------------------	---

HROC40-celler | 300822

Antigen expression CD326+, CD44+, CD15+, CD71+, CD73+, CD274+, CD47+, CD54+, CD95+, CD276+, CD133-, CD66acdewweak, IDO+, cFLIP+, MHC-I+, MHCIIweak etter IFN- γ -behandling, EpCAM+

Tumorigenic Ja, i immunsupprimerte nakne mus

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

Ploidy status Aneuploid

MSI-status MSS

Mutational profile P53G266e, APCwt, K-RasG13D, mt13, 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

Subculturing Etter tining resuspenderer du cellepelleten forsiktig. Sentrifuger ved 300 x g i 3 minutter, og kast supernatanten. Så ut i 2 x 25 cm² cellekulturkolber, og la kolbene stå i inkubatoren i 48 timer. Bytt ut det brukte mediet hver 2.-3. dag til 80-90 % konfluens er nådd. Dette vil ta omtrent 10-14 dager.

Split ratio Et forhold på 1:4 til 1:8 anbefales

Seeding density 5x10⁴ celler/cm² etter tining, 3x10⁴ celler/cm² når cellene formerer seg kraftig

Fluid renewal Hver 3. til 5. dag

Post-Thaw Recovery Rask

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.

HROC40-celler | 300822

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 % 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.

HROC40-celler | 300822

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: 10

D13S317: 11,12

D16S539: 10,11

D5S818: 11,13

D7S820: 11

TH01: 8,9

TPOX: 8

vWA: 15,17

D21S11: 30