

HROBMC01 Cellar | 300800

Generell informasjon

Description	Dette er en av en serie cellerlinjer for kolorektalt karsinom som har blitt etablert av PD Dr. Michael Linnebacher siden 2006. Denne linjen ble etablert fra en hjernemetastase av et primært kolorektalt karsinom.
Organism	Menneskelig
Tissue	Kolorektal
Disease	Adenokarsinom
Metastatic site	Hjerne
Applications	Forskning på hjernemetastaser ved tykktarmskreft; biologien bak metastaser fra tykktarmskreft til hjernen; modellering av PTEN-negativ tykktarmskreft; testing av legemiddelfølsomhet; biologien bak hjernespesifikke metastaser ved tykktarmskreft; HROC-studier med pasienttilpassede biobanker; mekanismer for metastaser til sentralnervesystemet

Kjennetegn

Age	60 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Epitelial
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	HROBMC01 (Cytion-katalognummer 300800)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

HROBMC01 Cellar | 300800**CellosaurusAccession** CVCL_1D08**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Ingen genetisk modifisering; villtype-cellelinje fra pasientens tykktarmskreft med hjernemetastaser, etablert av PD Dr. Linnebacher**Biomolekylære data****Protein expression** PTEN-**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, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.**Split ratio** 1 til 3**Seeding density** 1×10^4 celler/cm²**Fluid renewal** Hver 3. til 5. dag

HROBMC01 Cellar | 300800**Post-Thaw Recovery**

Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 48 timer.

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 osmokeskyttende 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 °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 °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 x 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 dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturbolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-bolbe 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 °C, 5 % CO₂, 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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HROBMC01 Cellar | 300800

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 og molekylær analyse

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: 10,3

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