

HROC32 T3 M1-celler | 300819

Generell informasjon

Description	Dette er en cellelinje i en serie av tumorcellelinjer som har blitt etablert av PD Dr. Michael Linnebacher fra primære CRC-reseksjonsprøver siden 2006. Denne cellelinjen ble avledet fra en HROC32-svulst i et sent stadium.
Organism	Menneskelig
Tissue	Colon ascendens, UICC IV, etablert fra et pasientavledet xenotransplantat av primært CRC-vev (Colon ascendens, TNM-stadium T4N2M1R0L0V1 gradering G2, Lk(n) + 9, Σ Lk(n) 14)
Disease	Adenokarsinom
Metastatic site	Fjernmetastaser (UICC stadium IV; TNM T4N2M1; spesifikt fjerne metastaseområde ikke dokumentert)
Applications	Forskning på tykktarmskreft; modellering av tykktarmskreft i sent stadium; biologi ved PTEN-negativ tykktarmskreft; evaluering av kjemoterapi og målrettet behandling; immunologi ved tykktarmskreft; studier av pasientavlede xenotransplantater
Synonyms	HROC32x

Kjennetegn

Age	82 år
Gender	Kvinne
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Cell type	Epitelceller
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	HROC32 T3 M1 (Cytion-katalognummer 300819)
Biosafety level	1

HROC32 T3 M1-celler | 300819

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D07**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Ingen genetisk modifisering; villtype-CRC-cellelinje fra pasient, etablert av PD Dr. Linnebacher**Biomolekylære data****Protein expression** PTEN**Antigen expression** CD15 +, CD24 +, CD44 +, CD55 +, CD58 +, CD50 +, CD 54 +, CD66acde +, CD71 +, CD102 +, CD326 +, CD80 -, CD86-, EpCAM +, HLA-A2 +**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** APCwt, p53R282W, K-RasG12A, N-Raswt, H-Raswt SNP rs12628 ved kodon 27, PIK3CAst, BRafwt**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

HROC32 T3 M1-celler | 300819

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 2×10^4 celler/cm²

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 osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduisert stress.

HROC32 T3 M1-celler | 300819

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

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.

HROC32 T3 M1-celler | 300819

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: 14

D13S317: 11,12

D16S539: 11,12

D5S818: 11,12

D7S820: 8,11

TH01: 8,9

TPOX: 8,11

vWA: 19

D21S11: 31