

HROC80 T1 M1-celler | 300830

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 coecum, UICC IIIa, etablert fra et pasientderivert xenotransplantat av primært CRC-vev (Colon ascendens, TNM-stadium T3N2M1R0L1V0, grad G2, Lk(n) + 4, Σ Lk(n) 17).
Disease	Adenokarsinom
Synonyms	HROC80

Kjennetegn

Age	72 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	HROC80 T1 M1 (Cytion-katalognummer 300830)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_1G08
Depositor	M. Linnebacher

Biomolekylære data

HROC80 T1 M1-celler | 300830

Protein expression	PTEN
Antigen expression	HLA klasse I-positiv
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, K-RasG12V, p53R306, B-RAFwt, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt

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 NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820400a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	24 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, resuspend cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Split ratio	Et forhold på 1:5 til 1:10 anbefales
Seeding density	2×10^4 celler/cm ²
Fluid renewal	Hver 3. til 5. dag

HROC80 T1 M1-celler | 300830**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.

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 °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-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 Atmosphere37 °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 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HROC80 T1 M1-celler | 300830

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: 12

D13S317: 8

D16S539: 10

D5S818: 12,13

D7S820: 9,11

TH01: 6

TPOX: 8,11

vWA: 17

D21S11: 30,30.2