

Komórki HROC103 T0 M1 | 300802

Informacje ogólne

Description	Jest to jedna z serii linii komórkowych, które zostały stworzone przez PD Dr. Michaela Linnebachera z PDTx (Patient-derived Tumor xenograft) od 2006 roku.
Organism	Człowiek
Tissue	Jelito grube, ustanowiony z PDx (ksenograft pochodzący od pacjenta) pierwotnej tkanki CRC (Colon ascendens, stadium TNM T2N1M0R0L0V0, stopień G2, Lk(n) + 2, Σ Lk(n) 23).
Disease	Gruźlakorak
Metastatic site	Zajęcie regionalnych węzłów chłonnych (TNM N1; Lk(n)+2 z 23 zbadanych); brak przerzutów odległych (M0)
Applications	Badania nad rakiem jelita grubego; biologia raka jelita grubego; badania nad liniami komórkowymi pochodzącymi z diagnostyki predykcyjnej (PDx); ocena wrażliwości na leki i terapia celowana; modelowanie raka jelita grubego z mutacjami p53/KRAS; immunologia raka jelita grubego typu MSS; badania z wykorzystaniem biobanku HROC dopasowanego do pacjentów
Synonyms	HROC103

Charakterystyka

Age	44 lata
Gender	Męczyzna
Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Małe komórki w koloniach
Cell type	Nabłonek
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	HROC103 T0 M1 (numer katalogowy Cytion 300802)
Biosafety level	1

Komórki HROC103 T0 M1 | 300802**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_1D10**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Bez modyfikacji genetycznych; linia komórkowa raka jelita grubego typu dzikiego, pochodząca od pacjenta, wyhodowana z przeszczepu ksenogenicznego pochodzącego od pacjenta przez dr. Linnebachera**Dane biomolekularne****Ploidy status** Aneuploid**MSI-status** MSS**Mutational profile** P53 mut, APC mut, K-RasG12VA, N-Raswt, H-Raswt, PIK3CAwt, B-Rafwt**Obsługa****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/l glukozy, w: 2,5 mM L-glutaminy, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM pirogronianu sodu, w: 1,2 g/l NaHCO₃ (numer artykułu Cytion 820400a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 godzin**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** od 1 do 3**Seeding density** 2×10^4 komórek/cm²

Komórki HROC103 T0 M1 | 300802**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni**Post-Thaw Recovery** Kilka dni**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.**Thawing and Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otwórz zdezynfekowaną fiolkę i przenieś zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.**Flask Coating** Brak

Komórki HROC103 T0 M1 | 300802

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Profil STR

Amelogenin: x (Pacjent mężczyzna, Y utracony)

CSF1PO: 12

D13S317: 11,12

D16S539: 12,13

D5S818: 12,13

D7S820: 9

TH01: 6,9

TPOX: 8

vWA: 14,15