

Komórki HHC6548 T1 M1 | 300832**Informacje ogólne**

Description Jest to jedna linia komórkowa z serii linii komórkowych raka jelita grubego, raka płuc, guza żołądka i glejaka, które zostały stworzone przez PD dr Michaela Linnebachera od 2006 roku.

Organism Człowiek

Tissue Colon ascendens, UICC IIIc, Ustanowiony z pochodzącego od pacjenta ksenoprzeszczepu pierwotnej tkanki CRC (Colon ascendens, stadium TNM T3N2Mx, stopień G3).

Disease Gruczolakorak

Charakterystyka

Age 26 lat

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Morphology Podobny do nabłonka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HHC6548 T1 M1 (numer katalogowy Cytion 300832)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_1U94

Dane biomolekularne

Protein expression PTEN-

Tumorigenic Tak, u myszy nagich z obniżoną odpornością

Komórki HHC6548 T1 M1 | 300832**Ploidy status** Euploid**MSI-status** MSI-H**Mutational profile** K-Ras G13D, N-Ras wt, H-Raswt, B-Rafwt, PIK3CAwt**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** 26 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. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:4 do 1:8**Seeding density** 1×10^4 komórek/cm²**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni**Post-Thaw Recovery** szybki**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.

Komórki HHC6548 T1 M1 | 300832**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 otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść 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 zawieszonych, 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

**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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HHC6548 T1 M1 | 300832**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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 wykluczane 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,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 11,12
D16S539: 12
D5S818: 10
D7S820: 9,10
TH01: 9,10
TPOX: 8
vWA: 18,19

Allele HLA

A*: '03:01:01, '24:02:01
B*: '35:XX, '37:01:01
C*: '04:01:01, '06:02:01
DRB1*: '01:01:01G, '04:01:01
DQA1*: '01:01:01, '03:01:01
DQB1*: '03:02:01, '05:01:01
DPB1*: '01:01:01, '04:01:01
E: '01:01:01, '01:06:01