

Komórki HROBMC01 | 300800

Informacje ogólne

Description Jest to jedna z serii linii komórkowych raka jelita grubego, które zostały stworzone przez PD Dr. Michaela Linnebachera od 2006 roku. Linia ta została utworzona z przerzutu do mózgu pierwotnego raka jelita grubego.

Organism Człowiek

Tissue Jelito grube

Disease Gruczolakorak

Metastatic site Mózg

Applications Badania nad przerzutami raka jelita grubego do mózgu; biologia przerzutów raka jelita grubego do mózgu; modelowanie raka jelita grubego z ujemnym wynikiem badania PTEN; badania wrażliwości na leki; biologia przerzutów raka jelita grubego specyficznych dla mózgu; badania z wykorzystaniem biobanku HROC dopasowanego do pacjentów; mechanizmy powstawania przerzutów do ośrodkowego układu nerwowego

Charakterystyka

Age 60 lat

Gender Kobieta

Ethnicity Kaukaski

Morphology Podobny do nabłonka

Cell type Nabłonek

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation HROBMC01 (numer katalogowy Cytion 300800)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Komórki HROBMC01 | 300800

CellosaurusAccession CVCL_1D08**Depositor** M. Linnebacher**GMO Status** Bez modyfikacji genetycznych; linia komórkowa przerzutów do mózgu w raku jelita grubego (CRC) pochodząca od pacjenta, typu dzikiego, wyhodowana przez dr. Linnebachera

Dane biomolekularne

Protein expression PTEN-**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** Uzupetnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 30 godzin**Subculturing** Usun 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** 1×10^4 kom^{órek}/cm²**Fluid renewal** Co 3 do 5 dni

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

Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5×10^4 komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 48 godzin, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

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 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 x 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% CO₂, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Komórki HROBMC01 | 300800**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 i analiza molekularna**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 (Pacjent męczyzna, Y utracony)

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